UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

INCIDENZA DEL CARCINOMA EPATOCELLULARE IN PAZIENTI CON EPATOPATIA CRONICA HCV CORRELATA SOTTOPOSTI A TERAPIA ANTIVIRALE

Relatore: Chiar.mo Prof.
Gianluca Svegliati Baroni

Tesi di Laurea di:
Giulia Scandali

Correlatore: Dott.ssa
Laura Schiadà

A.A. 2018/2019

INDICE

1. **INTRODUZIONE**……....1

   1.1 **EPATITE C**……....3

      1.1.1 **Virologia**…….....3

      1.1.2 **Epidemiologia**……5

      1.1.3 **Caratteristiche cliniche**…….....7

      1.1.4 **Diagnosi**……10

      1.1.5 **Storia naturale**……11

      1.1.6 **Trattamento**……13

   1.2 **CARCINOMA EPATOCELLULARE**……..14

      1.2.1 **Epidemiologia**……..14

      1.2.2 **Fattori di rischio**……..16

      1.2.3 **Screening e sorveglianza**……17

      1.2.4 **Diagnosi**……18

      1.2.5 **Stadiazione e trattamento**……...19

      1.2.6 **Fisiopatologia dell'HCC in pazienti trattati con DAA**…….22

2. **SCOPO DELLO STUDIO**……27

3. **PAZIENTI E METODI**……28

   3.1 **Analisi statistica**……28

4. **RISULTATI**……29

5. **DISCUSSIONE**……...35

6. **CONCLUSIONI**……40

7. **BIBLIOGRAFIA**……41

8. **TABELLE E GRAFICI**……52

9. **FIGURE**……..73

1. INTRODUZIONE

La terapia dell'epatite C è stata rivoluzionata dagli Agenti Antivirali Diretti (DAA) (1). Le combinazioni orali di questi farmaci hanno una potente attività antivirale e sono altamente efficaci e sicure in tutte le categorie di pazienti con infezione da virus dell'epatite C (HCV), inclusi quelli con malattia epatica avanzata e quelli che hanno già sviluppato alcune complicanze della cirrosi, come l'ipertensione portale e l'ascite. Le linee guida internazionali raccomandano il trattamento di questi pazienti con una terapia Interferon-free e tali casi sono stati considerati prioritari negli ultimi 3-4 anni in molti paesi. Questa realtà sta generando un'enorme coorte di pazienti con cirrosi avanzata in cui l'agente eziologico, cioè l'HCV, viene definitivamente eradicato con grandi aspettative sui principali benefici come la prevenzione di complicanze, una migliore qualità della vita e sopravvivenza.

È stato dimostrato che l'eradicazione prolungata dell'HCV fornisce un indiscusso vantaggio clinico nei pazienti con e senza cirrosi trattati con terapie basate sull'Interferone (IFN) (2-5). I pazienti che hanno raggiunto la risposta virologica sostenuta (SVR) hanno avuto una significativa riduzione della progressione della malattia e delle complicanze e persino una regressione della fibrosi, rispetto a quelli senza SVR o non trattati. Tuttavia, siamo ben consapevoli che i benefici clinici ottenuti in passato nei pazienti trattati con regimi basati su IFN riflettevano principalmente la cura di uno stadio precoce della cirrosi e non possono essere trasferiti direttamente ai pazienti cirrotici che sono attualmente trattati con DAA orali, poiché molti di loro ricevono la terapia in uno stadio molto più avanzato della malattia, che è stato considerato di per sé una controindicazione al trattamento con IFN e che comporta intrinsecamente un maggior rischio di complicanze, tra cui quella neoplastica. Inoltre, le proprietà farmacologiche e i meccanismi di azione dell'IFN e dei DAA sono profondamente diversi.

I dati sugli esiti clinici dopo la terapia con DAA sono ancora limitati e si riferiscono a un periodo di follow-up piuttosto breve.

Attualmente, la letteratura si sta arricchendo sempre più di studi osservazionali prospettici condotti in diversi paesi per raccogliere grandi coorti di pazienti in grado di descrivere adeguatamente le implicazioni cliniche dell'eradicazione dell'HCV nelle diverse fasi della cirrosi e di dettare le migliori strategie per gestire i pazienti dopo la SVR.

Recentemente è stato sollevato un dibattito intenso e controverso su quale sia il rischio residuo di sviluppare carcinoma epatocellulare (HCC) in pazienti cirrotici trattati con DAA. Questo dibattito è stato innescato da studi (6,7) che suggeriscono che tale rischio potrebbe non essere ridotto, come è stato nei pazienti cirrotici che hanno ottenuto SVR con terapia a base di IFN, e potrebbe essere addirittura aumentato, specialmente in pazienti cirrotici sottoposti a terapia antivirale dopo essere stati curati per l'HCC. Questi studi, seppur retrospettivi e basati su piccole coorti di pazienti con caratteristiche di base molto diverse tra loro e con follow-up estremamente variabili (8), hanno sollevato la necessità di raccogliere ulteriori informazioni sull'evoluzione dei pazienti dopo terapia antivirale (6). Essi sono stati quindi seguiti da una serie di altre pubblicazioni che tuttavia non confermano tale aumento del rischio, anzi alcuni ne evidenziano una riduzione (8-16). Pertanto, il quadro che emerge per ora è piuttosto eterogeneo e non permette di delineare delle precise strategie da utilizzare nella pratica clinica.

Inoltre, poiché il regime terapeutico con DAA è stato recentemente esteso anche ai pazienti non cirrotici, diventa cruciale porre attenzione al rischio di HCC nei pazienti non cirrotici trattati e al rischio di insorgenza di HCC de novo, sviluppatosi per la prima volta dopo il trattamento con DAA, considerate le rilevanti implicazioni cliniche che deriverebbero da un eventuale aumento.

1.1 EPATITE C

1.1.1 Virologia

Il virione dell'HCV è un virus del diametro di 50 nm con involucro esterno (17) che circola nel siero dell'ospite in varie forme: virioni legati alle lipoproteine a bassissima e a bassa densità (VLDL e LDL) che sembra rappresentino la frazione infettiva, virioni legati alle immunoglobuline e virioni liberi. L'HCV è un virus a filamento singolo di RNA che appartiene alla famiglia Flaviviridae ed è stato classificato come l'unico membro del genere Hepacivirus (18). Gli epatociti sono il principale sito di replicazione di HCV anche se è stato ben documentato che le cellule mononucleate del sangue periferico, i linfociti B, i linfociti T e le cellule dendritiche consentono la replicazione del virus (19, 20). Dalla trasduzione del genoma dell'HCV viene generata una grande poliproteina che viene successivamente scissa dalle proteasi cellulari e virali per formare proteine strutturali e non strutturali.

L'HCV ha un tasso di mutazione spontanea elevato che comporta una notevole eterogeneità di ogni parte del genoma. Questo fenomeno viene favorito dall'alto tasso di turnover virale che porta alla produzione di 1010 – 10 12 virioni ogni giorno (21). La vita media stimata dell'HCV in circolo è di soli 45 minuti (22). Per descrivere l'eterogeneità dell'HCV, viene usato il genotipo virale che si riferisce a gruppi di HCV geneticamente distinti comparsi durante l'evoluzione, con una variazione di oltre il 34% del genoma tra un genotipo e l'altro. Esistono 6 genotipi (indicati con numeri) con sequenze simili nel 60-70% e diversi sottotipi (indicati con una lettera minuscola) con sequenze simili per più del 70% del genoma nell'ambito del genotipo maggiore e con sequenze simili tra loro per il 77-80% (23).

Esistono differenze geografiche nella distribuzione dei genotipi di HCV, così come nella modalità di acquisizione.

È possibile osservare anche differenze etniche di prevalenza dei genotipi. Negli Stati Uniti il genotipo 1a è il più diffuso (57% delle infezioni da HCV), seguito dal genotipo 1b (17%), genotipo 2 (14%), genotipo 3 (7%) e genotipi 4, 5 e 6 (meno del 5%) (24). In Europa il genotipo prevalente è l'1b (47%), seguito da 1a (17%), 3 (16%) e 2 (13%) (25). Il genotipo 4 è diffuso principalmente in Egitto, Medio-Oriente e in Africa Centrale (26). In Egitto, circa il 15% della popolazione è infetta da HCV e più del 90% ha il genotipo 4. A causa dell'alta prevalenza in Egitto, il genotipo 4 rappresenta il 20% della popolazione mondiale affetta da HCV. Il genotipo 5 è anche presente in determinate regioni di Francia, Belgio e Spagna (27). Il genotipo 6 è predominante in Asia. La distribuzione dei genotipi è molto cambiata con il fenomeno dell'immigrazione e con le modifiche della modalità di trasmissione dell'infezione. Il genotipo di HCV non sembra influenzare la gravità dell'epatopatia, definita invece dal grado di fibrosi e dalla probabilità di cronicizzazione dell'infezione acuta.

La seconda componente dell'eterogeneità genetica è la produzione delle quasispecie (23) che sono sequenze eterogenee di HCV che si ritrovano in un singola persona infetta e sono il risultato delle mutazioni che avvengono durante la replicazione virale. Lo sviluppo di quasispecie può essere uno dei meccanismi attraverso il quale il virus elude la risposta immunitaria dell'ospite e favorisce la persistenza dell'infezione (28). Un aumentato numero di quasispecie è stato associato a una più rapida progressione a cirrosi e allo sviluppo di HCC (29).

1.1.2 Epidemiologia

Più di 200 milioni di persone in tutto il mondo hanno un'infezione da virus dell'epatite C (25, 30). Complessivamente la prevalenza mondiale è aumentata dal 1990 al 2010. Esiste una notevole variabilità geografica con tassi di infezione che vanno dall'1.3 all'1.6% negli Stati Uniti al 15% in Egitto. Nel 2005 il picco di prevalenza in relazione all'età si è spostato da 35-44 anni (2.5%) a 55-64 anni (2.7%) (25). La prevalenza è più alta nei maschi (2.1%) che nelle femmine (1.1%) e negli afro-americani (3%) rispetto ai caucasici (1.5%). Altri fattori di rischio sono l'uso di droghe iniettabili, (31) le emotrasfusioni prima del 1992, l'aver avuto più di 50 partner sessuali nel corso della vita e un reddito familiare al di sotto della soglia di povertà.

L'uso di droghe iniettabili è sempre stato la principale via di acquisizione dell'HCV negli Stati Uniti e rende conto per almeno i 2/3 dei nuovi casi. La frequenza dell'infezione da virus C in soggetti che fanno uso di droghe varia dal 57 al 90% (31). La maggior parte di essi diventa positiva per anti-HCV nel giro di 6 mesi dall'inizio dell'uso di droghe iniettabili con scambio di siringhe.

Anche l'emodialisi cronica è associata a un elevato tasso di infezione da HCV. La prevalenza di anti-HCV in pazienti in emodialisi varia da meno del 10% negli Stati Uniti al 55-85% in Giordania, Arabia Saudita e Iran (32).

La trasmissione può avvenire dai pazienti infetti al personale di assistenza. Gli studi prospettici che hanno valutato la percentuale di positività anti-HCV del personale sanitario dopo esposizione indicano che i tassi vanno da 0.3% a 4% (33-35). Sebbene meno comunemente, la trasmissione dell'HCV può avvenire anche dal personale sanitario al paziente (36). Poiché l'infezione acuta da HCV è spesso subclinica, la trasmissione nosocomiale può avvenire con frequenza maggiore rispetto a quella ufficialmente nota.

L'implementazione del test per l'HCV su sangue donato (tra il 1990 e il 1992) ha drasticamente ridotto l'acquisizione dell'infezione con le trasfusioni (37).

Nonostante l'incidenza della trasmissione dell'HCV attraverso strumenti sanitari si sia marcatamente ridotta, il rischio non è stato eliminato. Ad oggi nessun trattamento è risultato efficace per la profilassi post-esposizione.

L'HCV può essere trasmesso anche per via non percutanea che include le pratiche sessuali e il parto. Dal 10 al 20% dei pazienti con infezione da HCV riferisce come fattore di rischio solo l'esposizione sessuale con partner infetto. In un grande studio prospettico condotto su partner sieronegativi monogami di pazienti infetti da HCV che negavano rapporti sessuali per via anale e durante le mestruazioni, non si sono verificati casi di trasmissione di HCV con la stessa sequenza genetica del partner infetto in un follow-up di 10 anni (38). In maniera simile, uno studio nel quale sono stati esaminati nel tempo 500 soggetti anti-HCV positivi e i loro partner eterosessuali di lunga data, ha identificato solo 3 coppie (0.6%) con specie virali concordanti (39). Quindi, molti dei casi presunti di trasmissione per via sessuale sono probabilmente legati ad altri tipi di esposizione, forse non segnalate o riconosciute. D'altra parte se il partner sessuale è infetto con l'HIV o i partner praticano attività sessuali ad alto rischio (rapporti anali) la trasmissibilità dell'HCV è presumibilmente più alta (40).

Il rischio di trasmissione perinatale dell'infezione da HCV è basso, in media dal 5.1 al 6.7% per pazienti con monoinfezione da HCV e da 2 a 3 volte più alto per pazienti con coinfezione HCV-HIV (41, 42). Le madri con alta viremia trasmettono con maggiore probabilità l'infezione ai loro figli. I dati relativi al rischio di trasmissione associato al parto vaginale in confronto al parto cesareo non derivano da studi controllati, ma l'evidenza che il parto vaginale sia associato ad un più alto rischio di trasmissione dell'HCV resta poco convincente. Sebbene esistano pochi dati, il rischio di trasmissione durante l'allattamento è trascurabile. Le società scientifiche internazionali hanno concluso che l'allattamento da madri infette con HCV è in genere sicuro (25, 43).

1.1.3 Caratteristiche cliniche

Si stima che l'infezione da HCV determini il 20% delle epatiti acute. L'epatite acuta da virus C si riscontra raramente nella pratica clinica perché l'infezione è asintomatica in quasi tutti i casi. Per tale ragione non è facile studiarne le fasi precoci. L'HCV-RNA diventa rilevabile nel siero da 7 a 21 giorni dopo il contagio (44). L'aumento dell'alanina aminotransferasi (ALT) si osserva tra 4 e 12 settimane, con livelli sierici frequentemente superiori a 10 volte il limite superiore della norma e aumento concomitante della bilirubina (45). Tra le 2 e le 12 settimane dopo l'infezione, alcuni pazienti sviluppano sintomi clinici aspecifici. Quelli più frequentemente riportati sono nausea, dolore addominale, anoressia, febbricola, prurito e mialgie. L'ittero si sviluppa nel 50-84% dei pazienti con infezione acuta da HCV. L'epatite fulminante è stata riportata in pochi casi.

La percentuale di cronicizzazione varia dal 45% a più del 90%. Età e sesso influenzano il rischio di cronicizzazione con tassi inferiori nei pazienti più giovani e nel sesso femminile. Altri fattori rilevanti includono la fonte di infezione e l'entità della carica virale a cui si è stati esposti (la cronicizzazione può essere meno frequente nei tossicodipendenti rispetto a coloro che hanno acquisito l'infezione a seguito di emotrasfusioni), lo stato immunitario dell'ospite (il tasso di cronicizzazione risulta più elevato nei soggetti in stati di immunodeficienza come l'agammaglobulinemia e l'infezione da HIV) e l'etnia del paziente (negli Stati Uniti il tasso di persistenza del virus è più alto negli afro-americani rispetto ai caucasici e agli ispanici americani) (46).

Il tasso di clearance spontanea è più elevato nei pazienti sintomatici nei quali si manifesta l'ittero durante la fase acuta dell'infezione rispetto ai pazienti asintomatici (47).

Nei pazienti con infezione cronica da HCV i livelli sierici di ALT sono generalmente elevati ma, poiché fluttuano nel tempo, almeno metà dei pazienti in un determinato periodo può presentare ALT nella norma (48).

Livelli di ALT persistentemente normali sono più frequenti nelle donne e risultano comunemente associati a livelli più bassi di HCV-RNA e minore gravità di malattia (infiammazione e fibrosi) alla biopsia.

La maggior parte dei pazienti con epatite cronica da virus C è asintomatica prima della progressione a uno stadio di fibrosi epatica avanzata. I pazienti con infezione cronica da virus C, tuttavia, lamentano frequentemente astenia o deflessione del tono dell'umore e presentano punteggi costantemente inferiori in tutti i campi della qualità della vita legata allo stato di salute (HRQOL) rispetto ai soggetti HCV-negativi (49). Se la suddetta riduzione sia legata a fattori virali, fattori sociali (per esempio stigmatizzazioni) o preoccupazioni relative alla malattia di per sé risulta poco chiaro.

I pazienti con infezione da HCV possono presentare manifestazioni extraepatiche la cui associazione con l'infezione è certa (crioglobulinemia mista di tipo 2 e 3, gammopatia monoclonale, lichen planus, linfoma non Hodgkin a cellule B, porfiria cutanea tarda e tiroidite autoimmune) e altre la cui associazione con l'infezione è probabile (carcinoma a cellule renali, diabete mellito, fibrosi polmonare idiopatica, nefropatia non crioglobulinemica, poliartrite cronica, sindrome sicca, tumore della tiroide e vitiligine).

Il 19-50% dei pazienti con infezione da HCV presenta crioglobuline sieriche ma le manifestazioni cliniche legate alla crioglobulinemia sono mostrate solo dal 5-10% di questi e sono più comuni nei pazienti cirrotici (49). I sintomi e i segni comprendono astenia, artralgie e mialgie, artriti, porpora palpabile, fenomeno di Raynaud, vasculite, neuropatia periferica e nefropatia (glomerulonefrite membranoproliferativa e nefropatia membranosa) (49). Secondo i dati riportati dall'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato, al momento della diagnosi il 20% dei pazienti con crioglobulinemia di tipo 2 presenta coinvolgimento renale e un altro 35-60% lo svilupperà successivamente. In circa il 15% dei pazienti la nefropatia crioglobulinemica progredisce in un'insufficienza renale che richiede la dialisi.

L'infezione da HCV è associata allo sviluppo di linfoma non Hodgkin a cellule B e di gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) (50). Il rischio relativo di sviluppare linfoma è basso (1.28) (51).

Nonostante la nota associazione tra infezione da HCV e linfoma, l'HCV-RNA non si integra nel genoma dell'ospite e non può essere considerato un tipico virus oncogeno. Piuttosto, l'HCV mostra linfotropismo e può facilitare lo sviluppo e la selezione di cloni di cellule B anomale attraverso la stimolazione cronica del sistema immunitario.

Anche se non associata a manifestazioni cliniche, la sieropositività per autoanticorpi (ANA a titolo superiore a 1:40 presenti nel 9% dei casi, ASMA con titolo superiore a 1:40 nel 20%, LKM nel 6%) è frequente in individui con infezione da HCV (52).

Lo spettro di manifestazioni extraepatiche può incidere negativamente sulla sopravvivenza globale dei pazienti con infezione da HCV. Uno studio prospettico condotto sulla popolazione di Taiwan nel quale sono stati seguiti quasi 24.000 adulti dai 30 ai 65 anni, ha dimostrato che i soggetti con infezione da HCV non solo presentano un incremento della mortalità correlata alla malattia epatica, ma anche una maggiore mortalità per malattie extraepatiche rispetto ai soggetti anti-HCV-negativi (53).

1.1.4 Diagnosi

Numerosi test sia immunologici che molecolari sono utilizzati per rilevare e monitorare l'infezione da virus C. La presenza degli anticorpi anti-HCV ad alto titolo nel siero indica esposizione al virus ma non è in grado di differenziare l'infezione acuta dalla forma cronica o da un'infezione già risolta.

L'attuale gold standard per la determinazione della viremia nei soggetti anti-HCV positivi è rappresentato da test quantitativi altamente sensibili del tipo "real time" (54). Nella maggior parte dei casi il limite inferiore di sensibilità di tali test varia da 10 a 15 UI/ml (55).

Un'alternativa più economica è il test per il dosaggio dell'antigene del core dell'HCV che presenta però importanti limiti di sensibilità, quindi può essere utilizzato solo per confermare la presenza della viremia.

Per l'identificazione del genotipo dell'HCV il test più accurato è la PCR e il sequenziamento diretto della regione NS5B o della regione E1.

Per i pazienti a basso rischio di infezione da HCV, un risultato negativo per anticorpi anti-HCV è sufficiente a escludere l'infezione da HCV. La positività degli anticorpi anti-HCV è sufficiente per confermare la diagnosi in presenza di ALT elevate. Se il livello sierico di ALT non è elevato, deve essere misurato l'HCV-RNA. Nei pazienti ad alto rischio, come quelli con elevati livelli di ALT e con noto fattore di rischio per l'infezione da HCV, che hanno sperimentato un'esposizione recente o sono immunocompromessi o in dialisi, la positività degli anticorpi anti-HCV è sufficiente a confermare l'infezione da HCV; se invece non si riscontrano gli anticorpi anti-HCV, allora dovrebbe essere eseguito il test per l'HCV-RNA (43).

1.1.5 Storia naturale

Una volta che l'infezione cronica da virus C è stata accertata, la guarigione spontanea si verifica raramente. L'epatite C cronica causa progressivo danno al fegato con conseguente cirrosi epatica e HCC.

La cirrosi si sviluppa in media nel 16% dei pazienti nell'arco di 20 anni dall'acquisizione dell'infezione (56) (figura 1). La cirrosi è attribuibile all'infezione da HCV nel 27% dei casi con una notevole variabilità tra i diversi studi (dal 14 al 62%) che può essere spiegata dalle differenze geografiche e dalla presenza di altri cofattori (46, 57). L'età è uno dei fattori di rischio più importanti per la progressione della fibrosi nei pazienti con infezione cronica da HCV. Nel complesso, la cirrosi si sviluppa nella maggior parte dei pazienti affetti da epatite C con più di 65 anni d'età, indipendentemente dall'età in cui è stata contratta l'infezione (58). Il sesso femminile sembra essere un fattore protettivo; la progressione della fibrosi è molto più veloce nei maschi HCV-positivi, suggerendo che fattori ormonali siano rilevanti nella regolazione della fibrosi epatica (59). Il grado di attività istologica e l'incidenza di cirrosi sono più bassi negli afroamericani rispetto ai caucasici (60). Valori sierici elevati di transaminasi sono utilizzati come marcatore surrogato di infiammazione epatica ed elevati livelli sierici di ALT sono associati ad un aumento del rischio di progressione della fibrosi epatica (61). In pazienti con normali livelli sierici di ALT è riportata bassa progressione della fibrosi, anche se livelli normali di ALT non escludono la possibilità di progressione (48). Diversi studi hanno descritto una progressione più rapida nei pazienti con infezione da genotipo 3 (62) e ciò si correla all'elevato tasso di mortalità riportato per questi pazienti (63). Riacutizzazioni citolitiche si verificano più frequentemente nel genotipo 2, comportando un decorso più grave della malattia (64). Diversamente, la carica virale non è correlata al grado di danno epatico o alla fibrosi (65).

Il consumo eccessivo di alcol è un fattore di rischio indipendente per la cirrosi e l'assunzione cronica di alcol in quantità superiori al 50 g al giorno è associata a un notevole aumento del rischio in pazienti con infezione da virus C.

L'epatite cronica da HCV è responsabile di circa il 25% dei casi di HCC con percentuali particolarmente alte nell'Asia orientale (66). Diversamente da quanto accade nell'epatite cronica da HBV, l'HCC dovuto a HCV si sviluppa in genere in fegati cirrotici, sebbene possa essere riscontrato anche in pazienti con epatite cronica senza cirrosi. Lok et al. hanno riportato una percentuale d'incidenza dell'HCC dello 0.8% l'anno nei pazienti non cirrotici con infezione cronica da HCV ma che hanno una fibrosi avanzata (67), mentre il rischio è maggiore nei pazienti cirrotici con percentuali dell'1.4-4.9% l'anno (68, 69) (figura 1). Nei pazienti con cirrosi HCV-relata, il rischio di HCC a 5 anni è del 7-30% (70, 71). La comparsa di HCC è spesso la prima complicanza della cirrosi da virus C e si verifica prima della comparsa di scompenso epatico. I fattori di rischio per lo sviluppo di HCC nei pazienti con infezione cronica da HCV sono simili a quelli associati allo sviluppo di cirrosi. Per esempio, l'età avanzata, il sesso maschile e l'abuso di alcol sono fattori di rischio noti. Inoltre, il diabete mellito di tipo 2 è stato identificato come importante fattore di rischio indipendente (72, 73). La coinfezione con HBV incrementa il rischio di HCC. Inoltre, esistono interazioni sinergiche tra i vari fattori di rischio che verosimilmente aumentano il rischio complessivo di sviluppare questo tumore.

1.1.6 Trattamento

La monoterapia con IFN-α fu approvata per il trattamento dell'epatite cronica da HCV, allora nota come epatite non-A non-B, prima che l'HCV fosse identificato. Grandi progressi sono stati fatti con l'introduzione di periodi prolungati di trattamento, di formulazioni pegilate di IFN a lunga durata e dell'analogo orale della guanosina, la ribavirina. Nel 2011 sono stati approvati per il trattamento dell'infezione da HCV con genotipo 1 i primi Agenti Antivirali Diretti (DAA), telaprevir e boceprevir, e nel 2013 simeprevir e sofosbuvir, rispettivamente un inibitore della proteasi e un inibitore nucleotidico della polimerasi. Maggiori conoscenze sul meccanismo di replicazione dell'HCV hanno condotto allo sviluppo di ulteriori classi di DAA che includono gli inibitori dell'NS5A e gli inibitori nucleosidici e non nucleosidici della polimerasi dell'HCV (74). Tutti questi farmaci inibiscono la replicazione dell'HCV interferendo con la rispettiva fase del ciclo vitale del virus. Ad oggi le linee guida Europee e Americane raccomandano il trattamento per tutti i pazienti infetti al fine di prevenire le complicanze sia epatiche sia extraepatiche dell'infezione da HCV (8). Diversi studi hanno riportato tassi di SVR intorno al 95-97% nella cirrosi compensata e intorno al 85-90% in soggetti con malattia epatica più avanzata, dimostrando l'efficacia di questi farmaci (6, 7, 9). La funzionalità epatica può infatti migliorare dopo l'eradicazione del virus, con una significativa diminuzione del gradiente di pressione venosa epatica, evitando così il trapianto in alcuni casi di malattia avanzata ma ottenendo i più grandi benefici in pazienti con cirrosi compensata senza evidenza clinica di ipertensione portale (8). Il loro utilizzo ha generato inoltre diverse aspettative: in primo luogo, eradicando l'infezione, ne conseguirebbe una riduzione del numero di pazienti che vanno incontro ad evoluzione in cirrosi e di quelli che necessitano di trapianto epatico; in secondo luogo, in assenza dell'infiammazione cronica correlata all'infezione, verrebbero meno i meccanismi alla base della cirrosi e del danno oncogenico e, dunque, si assisterebbe ad un calo del tasso di tumori (6, 7).

1.2 CARCINOMA EPATOCELLULARE

1.2.1 Epidemiologia

Il carcinoma epatocellulare rappresenta approssimativamente il 4% di tutti i nuovi casi di cancro diagnosticati in tutto il mondo e, all'incirca, l'85-90% di tutti i tumori del fegato. Costituisce la terza causa di morte per cancro tra gli uomini e la sesta tra le donne; ogni anno viene diagnosticato a più di 560.000 persone e quasi lo stesso numero di pazienti muore a causa di esso, a dimostrazione della pessima prognosi di questo tipo di tumore (75, 76).

Uno studio in Giappone ha rilevato che la percentuale di incidenza dell'HCC ha cominciato a diminuire nel 2000. Una simile evoluzione tendente al calo è stata osservata anche in alcuni paesi europei come Italia e Francia (77). Al contrario, negli Stati Uniti l'HCC è il tumore che è aumentato più rapidamente in incidenza a partire dal 2000 (78).

Il carcinoma epatocellulare ammonta a circa l'1% di tutte le morti nel mondo nel 2004 (79). È stato stimato che la sopravvivenza mediana dei pazienti con HCC sia inferiore ad 1 anno (80). Senza un trattamento efficace la sopravvivenza mediana riportata è addirittura più bassa (meno di 5 mesi) (81, 82).

La distribuzione globale dell'età dei pazienti con epatocarcinoma varia a seconda della regione, del tasso di incidenza, del genere e dell'eziologia (83).

Nella popolazione generale i soggetti di sesso maschile sono a maggior rischio di sviluppo di epatocarcinoma rispetto al sesso femminile, con un rapporto maschi/femmine che generalmente è tra 2:1 e 4:1. Tale differenza si accentua nelle aree ad alta e media incidenza, come ad esempio in Francia dove il rapporto maschi/femmine è 5:1. Il rapporto tra i due sessi tende ad essere meno pronunciato in Italia (area ad incidenza medio-bassa), in cui si è passati da un rapporto di 3.1 a un rapporto di 1.4.

Le cause della differente distribuzione in ambo i sessi devono ancora essere spiegate ma un ruolo importante potrebbe essere giocato dagli ormoni sessuali e dalla diversa esposizione a fattori di rischio. I soggetti di sesso maschile, infatti, sono più esposti a infezioni da HBV e HCV, consumo di alcol, fumo di sigaretta, hanno maggior indice di massa corporea (BMI) e, inoltre, hanno maggiori depositi di ferro (84).

1.2.2 Fattori di rischio

I principali fattori di rischio per lo sviluppo di epatocarcinoma sono rappresentati dalle epatiti virali croniche da HBV e HCV e dalla cirrosi, di qualunque eziologia essa sia. Le epatopatie da HBV e HCV, insieme, rendono conto dell'80-90% di tutti i casi di epatocarcinoma nel mondo (85). Un ruolo nell'incidenza dell'epatocarcinoma sembra svolto anche dall'utilizzo di contraccettivi orali e dall'esposizione a fattori di rischio ambientali e occupazionali (es. esposizione all'aflatossina B_1 e al fumo di sigaretta). Una certa quota di epatocarcinoma rimane, nonostante tutto, di eziologia ignota: in questi casi si parla di forme criptogenetiche. Le linee guida EASL del 2018 (91) individuano anche altri fattori di rischio: l'abuso di alcol, alcune malattie croniche metaboliche del fegato (emocromatosi e deficit di α1-antitripsina) e la sindrome metabolica che conduce a steatosi epatica. Tra i fattori di rischio più determinanti vi è inoltre la storia di pregresso HCC, dunque le recidive costituiscono un aspetto non trascurabile di questa patologia. Un altro fattore di rischio indipendente insieme alla storia di HCC è la classe di Child-Pugh, secondo l'omonimo score che valuta la gravità dell'epatopatia (7). Nello studio di Conti et al (7) non è stata trovata alcuna correlazione tra l'insorgenza di HCC e il genotipo virale o il tipo di DAA utilizzato, né per l'HCC de novo né per le recidive. Una metanalisi di Waziry et al (16) ha individuato nell'età più avanzata, nelle peggiori condizioni generali e nel più elevato grado di fibrosi dei fattori predittivi di insorgenza di HCC, dopo aver preso in esame molteplici studi per una popolazione composta complessivamente di 6002 pazienti trattati con DAA.

1.2.3 Screening e sorveglianza

L'ecografia addominale è il metodo di scelta per lo screening perché ha sensibilità, specificità e valore predittivo positivo e negativo adeguati (85, 86).

L'alfa-fetoproteina non è più considerata un test di screening adeguato dalla "American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)" e dalla "European Association for the Study of Liver (EASL)", data l'elevata percentuale di risultati falsi positivi e falsi negativi nei pazienti con epatite cronica e cirrosi. Non esistono evidenze che dimostrino un suo contributo nell'elevare la sensibilità diagnostica dell'ecografia nello screening dei pazienti cirrotici; inoltre incrementa la percentuale di falsi positivi.

La sensibilità diagnostica dell'ecografia nel paziente cirrotico varia dal 65% all'80%, con specificità superiore al 90%. La metodica è ben accettata dalla popolazione, ma è operatore-dipendente ed è limitata nei pazienti obesi o con intenso meteorismo intestinale (86).

Studi del tempo di raddoppio del volume del carcinoma epatico hanno definito 6 mesi il tempo medio in cui il tumore raddoppia il proprio volume e questo intervallo è stato scelto per la sorveglianza del paziente con cirrosi, in quanto accorciando l'intervallo per esempio a 3 mesi, degli studi hanno dimostrato un incremento dei costi a causa di un eccesso di risultati falsamente positivi (87, 88).

1.2.4 Diagnosi

Il riscontro ecografico di una lesione focale solida di nuova comparsa in un fegato cirrotico deve essere confermato ed approfondito mediante tecniche di imaging contrastografiche (TC, RM, CEUS) o tramite analisi istopatologica del nodulo (biopsia mirata) (86, 89, 90). Nella figura 2 è riportato l'algoritmo diagnostico cui sottoporre una lesione nodulare epatica sospetta per HCC suggerito dalla "European Association for the Study of the Liver (EASL)". Il carcinoma epatocellulare è praticamente l'unica neoplasia la cui diagnosi è principalmente radiologica in quanto il suo comportamento contrastografico è tipico, con captazione del mezzo di contrasto in fase arteriosa precoce e suo rapido "wash-out" in fase portale/venosa (figura 3). L'accuratezza della diagnosi radiologica dipende, tuttavia, dalle dimensioni del nodulo: per noduli con diametro superiore a 1 cm è sufficiente un'unica tecnica diagnostica positiva, mentre per noduli < 1 cm la caratterizzazione radiologica non è considerata affidabile (91, 93). Globalmente, in presenza di noduli epatici di nuova comparsa nell'ambito di un fegato cirrotico ≤ 2 cm la diagnosi radiologica è possibile solo in un terzo dei casi (sensibilità diagnostica = 33%), ma con una specificità assoluta. Nei restanti casi, i noduli epatici sono valutati istologicamente o con monitoraggio mediante ecografia a intervalli di 3 mesi.

In alcuni casi, la diagnosi di carcinoma epatico è clinica quando un nodulo superiore a 2 cm evidenziato con ecografia si associa a valori di α-fetoproteina superiori a 200 ng/ml.

Quando l'imaging radiologico non è sufficiente per raggiungere una corretta diagnosi è necessario ricorrere alla biopsia epatica; quest'ultima si associa ad un rischio di disseminazione metastatica nel 2.7% dei casi (91) e può dare risultati falsi negativi nel 30% dei noduli ≤ 2 cm. Grazie all'analisi immunoistochimica, tuttavia, l'esame bioptico è ciò che ci consente di discriminare più facilmente rispetto alle tecniche radiologiche un nodulo con displasia di alto grado da un nodulo di epatocarcinoma in fase precoce (91-93).

1.2.5 Stadiazione e trattamento

Per la stadiazione dell'HCC non esiste un sistema universalmente accettato.

Il "Barcellona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system" è un sistema che consente la stratificazione dei pazienti in cinque gruppi sulla base di Performance Status (secondo la scala di Karnofsky e la scala di ECOG - Eastern Cooperative Oncology Group), punteggio Child-Pugh e caratteristiche della neoplasia (dimensioni, invasione vascolare e/o metastasi extraepatiche). Il sistema non si limita alla sola predizione della sopravvivenza del paziente e/o alla definizione della prognosi ma consente di identificare una strategia terapeutica adeguata a ciascun paziente. Sulla base del sistema di stadiazione BCLC vengono distinti quattro stadi cui si fa corrispondere, in genere, una determinato tipo di trattamento:

- Very early stage (0): include pazienti con neoplasia singola di diametro inferiore ai 2 cm (carcinoma in situ), con funzione epatica conservata (classe Child-Pugh A) e senza segni e sintomi correlati alla neoplasia. In genere si tratta di piccole lesioni neoplastiche ben differenziate, con dotti biliari e rami portali, prive di invasione delle strutture contigue.
- Early stage (A): include pazienti con HCC singolo o con un numero di noduli ≤ 3, ciascuno di diametro ≤ 3 cm, con funzione epatica conservata (classe Child-Pugh A e B).
- Intermediate stage (B): include pazienti con neoplasia multinodulare (> 3 noduli di diametro > 3 cm), senza evidenza di invasione vascolare né di localizzazione extraepatica, in buon compenso funzionale (Child-Pugh A e B).
- Advanced stage (C): include pazienti che manifestano sintomi correlati alla neoplasia (Performance Status 1-2), con invasione vascolare e/o localizzazioni extraepatiche.

- Terminal stage (D): include pazienti in stadio terminale, con funzione epatica compromessa (classe Child-Pugh C) e severa disabilità correlata alla patologia neoplastica (Performance Status > 2).

La resezione può essere praticata per tumori monofocali, in presenza di ipertensione portale clinicamente non significativa e bilirubinemia nella norma. Raramente si resecano HCC > 5 cm, tuttavia questa opzione può essere tenuta in considerazione in presenza di nodulo singolo senza invasione vascolare/metastatica in quanto unica possibilità di trattamento radicale, dunque la grandezza del tumore non è necessariamente un fattore limitante (93).

Il trapianto di fegato viene eseguito in pazienti che rientrano nei criteri di Milano e che abbiano riduzione della funzionalità epatica tale da controindicare la resezione. Vengono inclusi all'interno dei criteri di Milano noduli singoli minori di 5 cm o fino a 3 noduli minori di 3 cm, in assenza di metastasi extraepatiche e di invasione vascolare (93). Se il tempo di attesa in lista è superiore ai 6 mesi, si possono mettere in atto strategie di "bridging", quali termoablazione percutanea con radiofrequenza (RFA) o chemioembolizzazione trans-arteriosa (TACE). La TACE può essere utile anche mettere in atto una sotto-stadiazione dell'epatocarcinoma così da consentire a certi pazienti di rientrare nei criteri di Milano ed essere sottoposti a trapianto (91).

In generale la chemioembolizzazione trans-arteriosa è indicata in pazienti asintomatici con HCC multifocale o non resecabile che non mostri evidenza di invasione vascolare e non abbia localizzazioni extraepatiche; i migliori candidati sono i pazienti in classe A di Child-Pugh (sebbene anche i pazienti in classe B possano, in determinate condizioni, essere inclusi) (93).

I pazienti con HCC ad uno stadio ancora più avanzato o per i pazienti i quali la TACE abbia fallito sono candidabili all'utilizzo del Sorafenib, farmaco anti-neoplastico che svolge azione anti-angiogenetica mediante l'inibizione dei recettori tirosin-chinasici di VEGF e PDGF.

I pazienti ad uno stadio terminale con un Performance Status maggiore di 2 e con diffusione massiva del tumore associata ad un grave scadimento della funzionalità epatica sono suscettibili soltanto di trattamenti sintomatici e palliativi (91-93) (figura 4).

1.2.6 Fisiopatologia dell'HCC nei pazienti trattati con DAA

La carcinogenesi nel fegato è un processo innescato dall'infiammazione epatica cronica e dalla fibrosi progressiva che ne consegue, conducendo allo sviluppo di cloni neoplastici e favorendo la loro diffusione in un ambiente tissutale predisponente (7).

Da ciò deriva che il trattamento con DAA, eradicando l'infezione e quindi la causa dell'infiammazione, dovrebbe ridurre anche l'incidenza dell'HCC. Questa riduzione, osservata nei regimi terapeutici a base di IFN e ribavirina, non trova però univoca conferma negli studi sui DAA, in particolare negli studi (6) e (7) in cui si segnala anzi un aumento del rischio di HCC specialmente durante e subito dopo il trattamento antivirale, con un pattern aggressivo e più frequentemente in pazienti che hanno ricevuto questa terapia dopo esser stati trattati per HCC.

Se dunque non è stato ancora possibile dimostrare con certezza l'efficacia dei DAA nel prevenire l'insorgenza dell'HCC o delle recidive, è necessario comprendere i meccanismi per i quali l'attesa diminuzione di questo rischio potrebbe non verificarsi.

La sorveglianza immunologica nei confronti delle cellule trasformate, innescata dagli antigeni non-self da esse espressi, svolge un ruolo fondamentale nella prevenzione e nella lotta allo sviluppo tumorale ed è il risultato dell'interazione tra il sistema immunitario dell'individuo e le alterazioni provocate dallo stato infiammatorio indotto dall'infezione. Le principali cellule coinvolte nel processo di soppressione dei cloni neoplastici sono i linfociti T attivati CD8+ specifici per HCC e le cellule natural killer (NK) (7, 8). Un'efficace terapia con DAA induce una drastica e rapida soppressione dello stato infiammatorio, testimoniata dal HCV-RNA che diventa non dosabile sin dai primi giorni (6) e dalle transaminasi che si normalizzano in poche settimane (7), comportando un'inevitabile alterazione della suddetta interazione.

A ciò si associa anche ad un calo dell'attivazione delle cellule NK e dei linfociti T nel fegato (specifici e non) con un ridotto homing dei leucociti nel fegato (7, 8), portando nel complesso a una maggiore probabilità che i cloni neoplastici eludano l'immunosorveglianza.

Conti et al (7) fanno notare che la maggior frequenza di HCC riscontrata nel loro studio in pazienti più giovani e con più elevato grado di fibrosi potrebbe corroborare questa ipotesi, poiché a una più giovane età corrisponderebbe una maggiore aggressività dei cloni neoplastici e alla fibrosi più avanzata una minore efficienza della sorveglianza immunologica.

La rapida rigenerazione tissutale innescata dall'altrettanto veloce risoluzione dell'infiammazione e non adeguatamente controbilanciata dalla morte cellulare immuno-mediata è sicuramente un ulteriore meccanismo non trascurabile promosso dai DAA che potrebbe avere un ruolo nell'oncogenesi (8).

Tutti i mediatori del sistema immunitario sopra citati, aumentati durante l'infezione da HCV nel tentativo di contenere il virus, sono quindi sia i responsabili del mantenimento dello stato infiammatorio cronico sia un importante freno allo sviluppo tumorale. In quest'ottica, sono stati proposti degli score predittivi della sopravvivenza e del rischio di recidiva in pazienti con HCC che potrebbero essere adottati nella pratica clinica. Essi includono diverse variabili immunologiche, tra cui il "systemic immune-inflammation index" basato sulla conta di neutrofili e piastrine, il rapporto neutrofili/linfociti, il rapporto AST/linfociti e il rapporto albumina/bilirubina (8, 94).

La potenziale differenza con il trattamento a base di IFN potrebbe risiedere dunque proprio nella diversa cinetica di soppressione della risposta infiammatoria all'infezione. L'IFN inoltre agisce nel controllo dello sviluppo tumorale attraverso diversi meccanismi, vale a dire prolungando le fasi del ciclo cellulare, regolando l'angiogenesi e l'attività di cellule come macrofagi, cellule dendritiche, linfociti B e T, attivando direttamente le cellule NK e sopprimendo la produzione di IL-12 da parte dei monociti (8).

Due recenti studi (95,96) che hanno analizzato l'effetto dei DAA sullo stato immunitario dell'ospite, indicano da un lato la ricostituzione dell'immunità innata da parte di questi farmaci (95), dall'altro una down-regolazione della produzione di IFNI e II e dei loro recettori, provocando così una perdita dell'azione di controllo sulla progressione tumorale sopra descritta (96).

Un'altra azione esercitata dai DAA è quella di modulare, riducendola, l'apoptosi indotta dal TNF nelle cellule tumorali, innescata dal ligando TRAIL, che costituisce un ulteriore meccanismo di difesa endogeno allo sviluppo di HCC.

Il microRNA-122 ha un ruolo centrale nella soppressione della replicazione virale e riduce l'oncogenesi, l'angiogenesi e lo sviluppo di metastasi intraepatiche di HCC (97), fungendo dunque da ottimo marker dello stato di malattia e di risposta alla terapia. I suoi livelli sierici si sono rivelati più bassi rispetto ai valori basali durante e nelle prime settimane dopo il trattamento con DAA, in particolar modo nei pazienti che hanno raggiunto l'SVR (8).

Nello studio di Faillaci et al. (98) è stato inoltre confermato il ruolo del VEGF e del pathway da esso attivato nell'insorgenza e nella recidiva di HCC e i livelli di questo fattore di crescita sono risultati significativamente aumentati durante il trattamento con DAA e durante il follow-up.

Anche la regolazione epigenetica potrebbe essere influenzata dall'eradicazione virale indotta da DAA, in particolare l'alterata metilazione degli istoni indotta da HCV sarebbe solo in parte corretta dall'azione di questi farmaci (99).

Nonostante il possibile ruolo dei meccanismi sopra descritti, la recidiva dopo un'iniziale risposta completa potrebbe essere dovuta a una disseminazione antecedente il trattamento e alla comparsa di nuove cellule neoplastiche in un fegato cirrotico che ha quindi già ricevuto l'insulto oncogenico piuttosto che allo sviluppo de novo di cloni neoplastici durante o dopo il trattamento, come dimostra il fatto che la maggior parte dei tumori sono stati diagnosticati entro i primi 3 mesi di terapia (6, 11).

A questo proposito, lo studio multicentrico di Kolly et al (100) evidenzia una possibile correlazione tra il tempo intercorso tra il trattamento dell'HCC e l'inizio della terapia con DAA e il tasso di recidiva, vale a dire che più questo intervallo è breve maggiore è la probabilità che essa si verifichi.

Nei pazienti con storia di precedente HCC, il rischio di recidiva sembra rimanere alto, apparentemente non influenzato dall'eradicazione virale. È possibile infatti che il processo innescato dalla replicazione virale, sulla base di un fegato cirrotico, diventi poi indipendente dalla replicazione stessa e che quindi i tassi di recidiva e le tempistiche con cui essa insorge risultino influenzati solo dalle caratteristiche proprie dell'HCC e non dal trattamento.

Per quanto riguarda L'HCC de novo, Debes et al. (101) hanno individuato un gruppo di 12 marcatori tumorali solubili tra cui marker di apoptosi, citochine e fattori di crescita che erano significativamente più alti prima del trattamento con DAA nei pazienti che lo hanno sviluppato rispetto ai controlli in cui non è comparso, suggerendo che i pazienti con HCC potrebbero presentare già di per sé un pattern immunologico più aggressivo, anche prima dei cambiamenti indotti dai DAA e che quindi il profilo immunologico responsabile del contenimento della crescita tumorale sarebbe più influenzato da caratteristiche individuali pregresse che dai cambiamenti indotti dai DAA.

È inoltre opportuno segnalare che in diversi studi, tra cui quelli di Li e collaboratori (14) e di Singer et al. (15), il rischio nei pazienti trattati con DAA non differiva da quello dei pazienti trattati con IFN una volta effettuata la necessaria correzione per fattori come età, sesso e stadio di malattia epatica che sono quindi da tenere in considerazione in quanto influenzano significativamente il rischio.

La maggior parte degli studi, nonostante vi sia qualche eccezione, sembra quindi suggerire che l'SVR, indipendentemente da come questa viene raggiunta, potrebbe sì ridurre il rischio di HCC de novo ma in un grado dipendente dallo stadio di malattia epatica.

Una volta raggiunta l'SVR, le comorbidità e lo stile di vita ricoprono un ruolo importantissimo e dovrebbero perciò essere tenuti in considerazione (8).

In conclusione, dai vari studi analizzati si evince che un'azione oncogenica diretta da parte dei DAA, sebbene non totalmente esclusa, è altamente improbabile (6) e che, se da un lato l'eradicazione virale ottenuta coi DAA non ha mostrato benefici nel breve e medio termine, anzi ha destato in alcuni di essi preoccupazioni circa un aumentato rischio, dall'altro dei sostanziali vantaggi potrebbero emergere più distintamente nel lungo termine, quando gli effetti di aver posto un freno al danno cronico correlato all'infezione diventano più evidenti (8).

2. SCOPO DELLO STUDIO

Il nostro studio valuta l'incidenza dell'HCC da febbraio 2015 a giugno 2019, in tutti i pazienti con epatopatia cronica HCV correlata che hanno iniziato la terapia con DAA presso il nostro Centro, dal 1 febbraio 2015 al 30 giugno 2018 raggiungendo SVR12 o 24. Si propone dunque di analizzare l'influenza della terapia antivirale sul rischio sia di HCC de novo, quindi in pazienti senza storia di HCC, sia di recidiva in pazienti che hanno già avuto e precedentemente trattato il tumore.

3. PAZIENTI E METODI

Il nostro è uno studio prospettico osservazionale, iniziato a febbraio 2015 che coinvolge tutti i pazienti affetti da epatopatia cronica HCV correlata sottoposti a terapia con i DAA fino al 30 giugno 2018. Il follow-up è terminato il 30 giugno 2019.

Il criterio principale di inclusione è la presenza di epatite C, verificata mediante ricerca ematica di HCV-RNA quantitativo e l'indicazione alla terapia con i DAA secondo le linee guida internazionali (25), le raccomandazioni AISF (Associazione Italiana per lo Studio del Fegato) e la prescrivibilità AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco).

3.1 Analisi statistica

Le variabili quantitative continue sono state espresse come medie e deviazioni standard, o mediane e range. Le variabili quantitative sono state confrontate utilizzando il test "t di Student". Il confronto tra mediane è stato fatto con il test di "Kruskal Wallis".

Le variabili qualitative sono state confrontate utilizzando il test "chi quadro" o "Fisher exact test".

Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

4. RISULTATI

Dal 1 febbraio 2015 al 30 giugno 2018, 231 pazienti con epatopatia cronica HCV correlata (93 femmine e 138 maschi) hanno iniziato la terapia con i DAA presso il nostro centro raggiungendo SVR 12 o 24 (tabella 1, grafico 1). Solo un paziente ha mostrato un relapse virologico, fallendo nel raggiungimento dell'SVR24. L'età media di tutti i pazienti è di 60 anni con DS ± 12.9 (grafico 2). I maschi sono significativamente più giovani delle femmine ($p < 0.00004$ – l'età media dei maschi è di 58 anni con DS ± 12.1; l'età media delle femmine è di 65 anni con DS ± 12.9) (tabella 2, grafico 2).

La cirrosi epatica è presente nel 40.7% dei pazienti (94 pazienti: 62 maschi e 32 femmine) (tabella 1, grafico 1). I pazienti non cirrotici (137 pazienti: 76 maschi e 61 femmine) (tabella 1, grafico 1) sono significativamente più giovani dei pazienti cirrotici ($p < 0.01$ – l'età media dei pazienti cirrotici è di 63 anni con DS ±12.2; l'età media dei pazienti non cirrotici è di 59 anni con DS ±13.1) (tabella 3, grafico 3). I pazienti maschi con la cirrosi sono significativamente più giovani delle femmine con la cirrosi ($p < 0.0001$ - l'età media dei maschi con la cirrosi è di 60 anni con DS ± 11.2; l'età media delle femmine con la cirrosi è di 70 anni con DS ± 11.4) (grafico 4).

Anche nei pazienti senza cirrosi la differenza dell'età media tra maschi e femmine è statisticamente significativa e i maschi risultano più giovani delle femmine ($p < 0.007$ - l'età media dei maschi senza cirrosi è di 56 anni con DS ± 12.7; l'età media delle femmine senza cirrosi è di 62 anni con DS ± 12.9) (grafico 4).

Non c'è differenza d'età statisticamente significativa tra i pazienti maschi con cirrosi e senza cirrosi ($p > 0.07$), mentre le femmine senza cirrosi sono significativamente più giovani delle femmine con cirrosi (rispettivamente età media di 62 con DS ± 12.9 e 70 con DS ± 11.4) ($p < 0.006$) (grafico 4).

Nel gruppo dei pazienti con la cirrosi, ci sono significativamente più pazienti con diagnosi di diabete, obesità (BMI ≥ 30) e con consumo di alcol (> 20 g/die) rispetto al gruppo dei pazienti senza cirrosi (rispettivamente $p < 0.004$ – pazienti con cirrosi e diagnosi di diabete 26, pazienti senza cirrosi ma con diagnosi diabete 17; $p < 0.0009$ – pazienti con cirrosi e obesità 14, pazienti senza cirrosi ma con obesità 4; $p < 0.001$ – pazienti con cirrosi che consumano alcol 21, pazienti senza cirrosi che consumano alcol 10). Non ci sono differenze statisticamente significative tra i pazienti con cirrosi e senza cirrosi e coinfezione da HBV ($p > 0.3$ – 4 pazienti con cirrosi e coinfezione da HBV, 10 pazienti senza cirrosi con coinfezione da HBV) (tabella 3, grafico 5).

Il 56.7% dei pazienti (131 pazienti) ha una infezione da HCV genotipo 1 e di questi, il 54.2% (71 pazienti) è infetto da genotipo 1b che risulta il genotipo più frequente (30.7% di tutti i pazienti) (grafici 6 e 7). Nel gruppo dei pazienti cirrotici, il genotipo più rappresentato è il genotipo 1b (37 pazienti); nel gruppo dei pazienti non cirrotici il genotipo più rappresentato è il genotipo 1a (38 pazienti) (grafici 8 e 9). Questa differenza è statisticamente significativa con $p < 0.01$.

Nei pazienti non cirrotici, 41 hanno una fibrosi F0 secondo Metavir (misurazione eseguita mediante Fibroscan) (29.9%), 34 pazienti hanno fibrosi F1 (24.8%), 23 pazienti hanno fibrosi F2 (16.8%) e 38 pazienti hanno fibrosi F3 (27.7%) (grafico 10).

All'inizio della terapia con DAA, 16 pazienti avevano già una storia di HCC precedentemente trattato con successo. Durante il follow-up, da febbraio 2015 a giugno 2019, dopo la terapia con i DAA, a 10 pazienti (tutti con cirrosi epatica) è stata fatta diagnosi di HCC (4.3% di tutti i pazienti, 10.6% dei pazienti cirrotici) (tabella 1, grafico 11). Per 5 di questi si tratta di una recidiva, appartengono cioè al gruppo dei 16 che avevano già avuto HCC prima della terapia antivirale, mentre per gli altri 5 la diagnosi è di HCC de novo. La mediana dei mesi di diagnosi di HCC dopo il termine della terapia con DAA è 10.5 (range 0-35) (grafico 12).

La mediana dei mesi di follow-up nei pazienti con HCC (recidiva o de novo) è 39 (range 29-51). A 5 pazienti (2.2% di tutti i pazienti) è stata fatta diagnosi di HCC entro 6 mesi dal termine della terapia con i DAA; ad altri 3 pazienti (1.3% di tutti i pazienti) è stata fatta diagnosi di HCC entro 24 mesi dal termine della terapia con i DAA; i restanti 2 pazienti (0.9%) hanno avuto diagnosi di HCC oltre 24 mesi dalla fine della terapia.

Nel gruppo dei pazienti con cirrosi che hanno avuto l'HCC dopo terapia con i DAA e nel gruppo dei pazienti cirrotici che non l'hanno avuto (84 pazienti) (tabella 1), maschi e femmine sono rappresentati ugualmente in quanto non vi è differenza statisticamente significativa ($p > 0.3$), così come per l'età media ($p > 0.5$) (tabella 4, grafici 11 e 13). Confrontando questi due gruppi di pazienti dal punto di vista delle comorbidità e dei fattori di rischio, coinfezione da HBV ($p > 0.4$), diagnosi di diabete ($p > 0.2$), obesità ($p > 0.6$), consumo di alcol ($p > 0.5$), funzione epatica pre-terapia con DAA misurata mediante Child-Pugh ($p > 0.8$), HCV- RNA quantitativo a 4 settimane di terapia con DAA ($p > 0.8$), precedenti terapie per l'epatite C ($p > 0.9$), e la mediana di anni di cirrosi ($p > 0.7$) non sembrano influire sulla comparsa di HCC in quanto non sono risultate differenze statisticamente significative tra i due gruppi (tabella 4, grafici 14, 15, 16, 17, 18). La storia di precedente HCC è invece risultata una caratteristica decisiva per lo sviluppo del tumore post-DAA, presente in 5 dei 10 pazienti con HCC post-DAA e in 4 degli 84 pazienti cirrotici senza HCC post-DAA, con una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p < 0.000004$) (grafico 19). Le combinazioni di antivirali utilizzate dai pazienti con tumore post-antivirali sono state Ledipasvir+Sofosbuvir per 4 pazienti, Sofosbuvir+Daclatasvir per 3, uno di loro è stato trattato con Ombitasvir+Paritaprevir+Ritonavir+Dasabuvir, uno solamente con Sofosbuvir e infine uno con Sofosbuvir+Simeprevir. Questa distribuzione non differisce statisticamente con quella dei farmaci utilizzati nei pazienti cirrotici che non hanno sviluppato HCC ($p > 0.4$) (grafico 20).

16 pazienti hanno avuto e hanno trattato l'HCC prima dell'inizio della terapia con i DAA. L'HCC è stato trattato prima di iniziare la terapia con i DAA mediante trapianto epatico (8 pazienti), TACE (3 pazienti), resezione chirurgica (4 pazienti), resezione e termoablazione intraoperatoria (1 paziente). 5 di questi pazienti hanno avuto una recidiva di tumore dopo terapia con DAA (2.2% di tutti i pazienti; 31.3% dei pazienti con HCC pre-trattamento) con una mediana dei mesi di ricorrenza di 6 (range 2-33) (grafici 12 e 21). La mediana dei mesi di follow-up dei pazienti con recidiva è 39 (range 29-44).

4 di loro presentavano un tumore in stadio BCLC-A prima del trattamento con DAA e 1 un tumore in stadio BCLC-B (grafico 22).

I pazienti che hanno avuto recidiva avevano trattato l'HCC con TACE (2 pazienti), resezione chirurgica (2 pazienti) e resezione e termoablazione intraoperatoria (1 paziente), mentre quelli che non l'hanno avuta con trapianto (8 pazienti), TACE (1 paziente) e resezione chirurgica (2 pazienti) (grafico 21).

Confrontando i pazienti con recidiva di HCC post-DAA con quelli che non l'hanno avuta dopo aver trattato l'HCC precedente alla terapia antivirale, non vi sono differenze statisticamente significative di età ($p > 0.7$), sesso ($p > 0.7$), di stadio del tumore (BCLC) pre-DAA ($p > 0.6$), di genotipo ($p > 0.3$), di farmaci antivirali impiegati ($p > 0.3$) (tabelle 5 e 6, grafici 22, 23, 24). Nell'ambito dei fattori di rischio di epatopatia, non vi è differenza statisticamente significativa per quanto riguarda il diabete ($p > 0.3$) e l'alcol ($p > 0.1$) mentre essa è presente per l'obesità ($p < 0.03$), che risulta maggiormente diffusa tra i pazienti con recidiva (2/5 pazienti tra le recidive e nessun paziente senza recidiva), ed è ancora più rilevante per quanto riguarda la cirrosi, che è infatti presente in tutti i pazienti con recidiva (5/5) e solo in 4 degli 11 pazienti con storia di HCC ma senza recidiva ($p < 0.02$) (tabella 6, grafico 25). Non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda l'esser stati precedentemente sottoposti a una terapia per l'HCV ($p > 0.5$) (grafico 26).

Ciò che invece varia significativamente tra i due gruppi è il tipo di trattamento del HCC pregresso ($p < 0.05$), in particolare si è visto che nessuno dei pazienti che ha fatto il trapianto per l'HCC pre-terapia con DAA ha avuto recidiva di tumore dopo la terapia e che la ricorrenza di HCC si è invece verificata in 2 dei 4 pazienti in cui l'HCC è stato resecato chirurgicamente, in 2 dei 3 pazienti in cui è stato trattato con TACE e nell'unico paziente trattato mediante resezione chirurgica e termoablazione intraoperatoria (grafico 21).

5 pazienti hanno avuto diagnosi di HCC de novo dopo terapia con DAA (2.2% di tutti i pazienti e 5.3% dei pazienti cirrotici). La loro età media è di 63 anni (con DS ± 14.1) e non vi è differenza statisticamente significativa né coi pazienti cirrotici senza HCC ($p > 0.9$) né coi pazienti con recidiva di HCC post-DAA ($p > 0.6$) (tabella 7, grafico 23). Tutti i pazienti con HCC de novo sono cirrotici e la mediana di anni di cirrosi è 6 (range 6-7), statisticamente in linea con quella dei pazienti che non hanno sviluppato HCC ($p > 0.5$) (grafico 18).

Per quanto riguarda comorbidità e fattori di rischio, nessuno di questi 5 pazienti è diabetico, obeso o presenta coinfezione da HBV, mentre 2 di loro consumano alcol (> 20 g/die). Non vi sono sotto questo punto di vista differenze statisticamente significative rispetto al gruppo dei pazienti cirrotici senza HCC post-DAA, con p almeno > 0.1 in tutti i confronti sopracitati (tabella 7, grafico 27). Il genotipo più rappresentato tra questi pazienti è l'1b (2 pazienti su 5, quindi il 40%), così come nei cirrotici senza HCC (41.7%) (grafico 28). Dal punto di vista della funzionalità epatica prima dell'inizio dei DAA, 3 pazienti presentavano una classe A di Child-Pugh e 2 una classe B e questo risultato non si discosta statisticamente da quello dei pazienti cirrotici senza HCC ($p > 0.4$) (tabella 7, grafico 15). L'HCV-RNA a 4 settimane dall'inizio della terapia è risultato positivo in 2 casi e non dosabile (<12 UI/ml) negli altri 3. Questo risultato è affine a quanto riscontrato nei pazienti cirrotici privi di HCC ($p > 0.8$) (grafico 16). 2 pazienti hanno ricevuto trattamenti per l'HCV precedenti ai DAA, mentre gli altri 3 erano naïve prima di iniziarli e anche in questo caso non vi è differenza statisticamente significativa rispetto ai pazienti cirrotici in cui l'HCC non è insorto ($p > 0.6$) (grafico 17).

Le differenti tipologie di antivirali utilizzate non hanno influito sull'insorgenza di HCC de novo, sempre in rapporto al gruppo dei pazienti con cirrosi ma senza HCC ($p > 0.6$) (grafico 20).

La mediana dei mesi dalla fine della terapia di diagnosi di HCC de novo è 15 con range 0-35 e non vi è differenza statisticamente significativa con la mediana dei mesi dalla fine terapia delle recidive ($p > 0.9$) (grafico 12).

Al termine della terapia antivirale, 4 pazienti presentano un tumore in stadio A secondo i criteri di Barcellona mentre 1 solo paziente presenta uno stadio B. Nel confronto statistico coi pazienti con recidiva post-DAA non sono emerse differenze significative ($p > 0.4$) (grafico 29). La mediana dei mesi di follow-up, inteso come il periodo di osservazione che va dall'inizio della terapia antivirale al 30 giugno 2019, dei pazienti con HCC de novo è 40 (range 37-51). Confrontandola con la mediana dei mesi di follow-up dei pazienti con cirrosi ma senza HCC post-DAA (44.5 con range 12-55) non emerge una differenza statisticamente significativa ($p > 0.8$), così come nel confronto della mediana dei mesi di follow-up tra i pazienti con HCC de novo e quelli con recidiva dopo terapia antivirale ($p > 0.3$) (grafico 30).

5. DISCUSSIONE

Il nostro studio ha coinvolto una coorte di 231 pazienti e ha permesso di osservare l'andamento del rischio di HCC post-DAA nei pazienti che si sono sottoposti a terapia antivirale presso il nostro centro.

L'incidenza di HCC riscontrata dopo terapia con i DAA, durante il follow-up da febbraio 2015 a giugno 2019 (53 mesi), in pazienti con SVR 12 o 24, è del 4.3% (10/231 pazienti). Il tasso di SVR è risultato pressoché totale, con SVR12 o SVR24 raggiunte da tutti i pazienti con un solo caso di relapse virale, testimoniando così la grande efficacia del trattamento con DAA nell'eradicazione virale per cui ci si attenderebbe anche un calo del rischio di HCC conseguente alla risoluzione dello stato infiammatorio cronico con ottime percentuali di successo.

Nel nostro studio i maschi sono significativamente più giovani delle femmine, i cirrotici costituiscono il 40.7% del totale e i pazienti non cirrotici sono risultati più giovani dei pazienti cirrotici.

Comorbidità e fattori di rischio come diabete mellito, obesità e consumo di alcol (> 20 g/die) sono più diffusi tra i cirrotici che tra i non cirrotici.

Il genotipo virale maggiormente rappresentato è risultato l'1b, con una distribuzione diversa tra cirrotici e non cirrotici: nei primi prevale l'1b, nei secondi l'1a.

A 7 pazienti è stata fatta diagnosi di HCC entro 24 mesi dal termine della terapia mentre ai restanti 3 pazienti entro 35 mesi.

L'incidenza di HCC dopo 12 mesi dal termine della terapia è del 2.2 % (5 pazienti), risultato che non si discosta di molto dal 1.2%/anno e dal 4.5%/anno osservati da Singer et al. e da Nagaoki e collaboratori nei loro studi, la cui conclusione è che il rischio cumulativo di HCC non possa dirsi aumentato dopo terapia con DAA (15, 102). Tutti i pazienti che hanno avuto diagnosi di HCC post terapia antivirale con DAA sono cirrotici.

Confrontando le caratteristiche dei pazienti che hanno avuto HCC post-DAA con quelle dei cirrotici che non l'hanno sviluppato, è emerso che l'età media, il sesso, le comorbidità e i fattori di rischio, la funzionalità epatica pre-DAA, la mediana degli anni di cirrosi, il tipo di DAA, un precedente trattamento per HCV e l'HCV-RNA a 4 settimane non hanno influenzato in maniera statisticamente significativa la comparsa del tumore, che è stata invece nettamente condizionata dalla storia di precedente HCC, presente in ben 5 dei 10 pazienti con tumore post antivirali.

Il dibattito sul carcinoma epatocellulare nei pazienti HCV trattati con DAA, ha recentemente coinvolto due distinti scenari clinici: i pazienti con una storia di HCC pre-terapia antivirale che hanno trattato il tumore e quelli senza un precedente HCC (de novo).

16 pazienti hanno avuto e hanno trattato l'HCC prima dell'inizio della terapia con i DAA.

Di questi, 5 hanno avuto una recidiva di tumore dopo terapia con DAA, con ricorrenza di HCC del 31.3%. Questo risultato, simile a quello osservato nello studio di Reig e collaboratori (41.2%) (6) e Conti et al. (28.8%) (7) suggerisce un aumento della ricorrenza dell'HCC dopo terapia con DAA. La mediana dei mesi di ricorrenza di HCC post terapia con i DAA è 6, in un range che va da 2 a 33. Questi dati potrebbero suggerire un follow-up più stretto per i pazienti che hanno avuto HCC prima della terapia antivirale, supportati anche da alcuni studi che documentano un tasso di recidiva tempo-dipendente, maggiore durante i primi mesi di follow-up (6, 7, 100), sebbene nel nostro studio le recidive non siano risultate più precoci rispetto agli HCC de novo. La maggiore incidenza nei primi mesi potrebbe in ogni caso non essere dovuta direttamente ai DAA ma a cellule neoplastiche sviluppatesi già prima della terapia antivirale o a focolai microscopici di malattia residua, in particolare in quei pazienti che non hanno ricevuto procedure curative come il trapianto epatico, la resezione chirurgica o la termoablazione ma trattamenti come la TACE e che quindi hanno già di per sé una maggiore probabilità di recidiva. Pertanto nei casi sopracitati l'attribuzione delle recidive ai DAA potrebbe rivelarsi erronea (9).

Tuttavia, la possibilità che l'intervento precoce con DAA dopo la cura del carcinoma epatico possa esporre a rischio di recidiva precoce del tumore in presenza di focolai di HCC residuali o metastatici microscopici o non riconosciuti, non può essere completamente esclusa.

Nel nostro studio, la modalità di trattamento del precedente HCC ha influenzato il rischio di comparsa di recidive, in particolare nel confronto coi pazienti che non ne hanno avute. Ciò che spicca è la netta prevalenza di pazienti trapiantati tra quelli che non hanno mostrato recidive (8/11), la quale sottolinea l'importanza di un trattamento quanto più possibile radicale. Questi dati sono in linea con quanto affermato nello studio di Pol et al. (9), fatta eccezione per il paziente trattato con resezione chirurgica e termoablazione, per cui non si attendeva una recidiva.

Sempre confrontando i pazienti con recidiva con quelli che non l'hanno avuta, fattori ritrovati più frequentemente nel primo gruppo sono stati la cirrosi e l'obesità, noti fattori di rischio per HCC (91).

Va d'altro canto sottolineato che la maggior parte degli studi pubblicati riporta una ricorrenza dell'HCC dopo terapia con DAA nel range di ciò che è previsto nel decorso naturale della malattia (9, 10, 93, 103, 104).

5 pazienti hanno avuto diagnosi di HCC "de novo" dopo terapia con DAA (2.2 % di tutti i pazienti, 5.3% dei pazienti cirrotici). Di questi, 2 pazienti hanno avuto la diagnosi di HCC entro 1 anno dal termine della terapia (2.1 % dei pazienti cirrotici). Questo dato è comunque simile a quello osservato nel passato (2.8-3.9 %/anno) in pazienti con cirrosi epatica HCV correlata che non hanno fatto il trattamento per l'epatite C (68, 71) o che hanno fatto terapia con IFN (105). È simile anche agli studi (7, 11-13, 16, 93, 106) che suggeriscono che il trattamento con DAA nei pazienti cirrotici non aumenta il rischio di sviluppare HCC dopo la terapia e che mostrano incidenze a un anno che oscillano tra l'1.1 e il 4%.

Nel nostro studio abbiamo operato un confronto tra i pazienti con HCC de novo e i cirrotici senza HCC, non rilevando alcuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi per quanto riguarda età media, diabete mellito, coinfezione da HBV, obesità, consumo di alcool, genotipo, precedenti trattamenti per HCV, funzionalità epatica pre-terapia, HCV-RNA a 4 settimane e mediana degli anni di cirrosi.

Abbiamo inoltre confrontato il primo gruppo coi pazienti con recidiva per quanto riguarda età media, mediana dei mesi dalla fine della terapia della diagnosi di HCC, stadio del tumore post-DAA e anche in questo caso non sono emerse differenze statisticamente significative.

La durata del follow-up, inteso come il periodo di osservazione che va dall'inizio della terapia con DAA al 30 giugno 2019, non è risultata significativamente più breve o più lunga rispetto a quella nei pazienti cirrotici senza HCC post-DAA e nei pazienti con recidiva, escludendo nel nostro studio una manifestazione particolarmente precoce o tardiva del tumore de novo rispetto alla fine della terapia antivirale.

Questi dati indicano una sostanziale sovrapponibilità tra i due gruppi per le caratteristiche esaminate. Non è dunque stato possibile individuare delle caratteristiche peculiari dei pazienti con HCC de novo che aiutassero a tracciare un potenziale profilo di rischio da studiare per eventualmente individuare dei pazienti potenzialmente meritevoli di una più stretta osservazione.

Il nostro studio non ha un gruppo di controllo di pazienti non trattati né di pazienti trattati con IFN, poiché i DAA sono indicati anche nei pazienti con malattia epatica avanzata o che addirittura hanno già avuto HCC, dunque il confronto tra pazienti trattati con IFN e pazienti trattati con DAA potrebbe essere eccessivamente influenzato dalle caratteristiche di base dei pazienti (7).

È inoltre opportuno precisare che nel confronto statistico tra i singoli gruppi, l'esiguo numero di pazienti che compongono alcuni di essi potrebbe inficiare la forza delle correlazioni riscontrate.

In sintesi, l'attesa diminuzione del rischio di HCC nei pazienti trattati con DAA come conseguenza dell'eradicazione virale e della risoluzione dell'infiammazione cronica non è stata riscontrata nel nostro studio. Considerando le recidive, i nostri risultati indicano al contrario un aumento di tale rischio, con percentuali affini a quelle degli studi di Reig et. al (6) e di Conti e collaboratori (7).

Se guardiamo invece gli HCC de novo, dal nostro studio non emerge un aumento del rischio, con valori che sono simili a quelli riscontrati nella popolazione non trattata per HCV (68,71) e in alcuni studi (7, 11-13, 93) che appunto smentiscono un aumento del rischio post-DAA.

6. CONCLUSIONI

In conclusione, il trattamento con DAA ha mostrato una grande efficacia e un buon profilo di sicurezza per l'eradicazione virale e dunque per la prevenzione delle complicanze epatiche ed extraepatiche dell'infezione da HCV, tuttavia il loro impatto sul rischio di HCC risulta ancora poco chiaro e merita ulteriore approfondimento. La letteratura è infatti poco concorde, in quanto accanto agli studi che hanno sollevato il problema dell'aumento del rischio di HCC o per lo meno di una sua mancata diminuzione a seguito dell'eradicazione virale indotta da DAA (6, 7) ce ne sono altri che sembrerebbero smentirlo e anzi dimostrarne un calo (9, 11, 14, 15). Inoltre, da questi studi è emerso che sia il numero dei pazienti analizzati, sia le loro caratteristiche di base (età, stadio dell'epatopatia, comorbidità), sia la durata del follow-up sono in grado di influenzare anche in maniera importante i risultati, che diventano via via meno allarmanti se si considerano coorti più ampie, follow-up più lunghi e se si corregge per le caratteristiche di base (8). Comunque, se questo campanello d'allarme trovasse conferma, diventerebbe importante individuare i meccanismi attraverso i quali i DAA potrebbero favorire la carcinogenesi e quindi aumentare il rischio di HCC, nonché eventuali profili di rischio legati a caratteristiche individuali dei pazienti. Pertanto qualsiasi eventuale implicazione in ambito clinico è subordinata alla chiarificazione di questi aspetti e ulteriori studi per approfondirli sono indispensabili.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. Gastroenterology. 2014;146:1176-1192.
2. Tada T, Kumada T, Toyoda H, et al. Viral eradication reduces all- cause mortality in patients with chronic hepatitis C virus infection: a propensity score analysis. Liver Int. 2016;36:817-826.
3. Innes HA, McDonald SA, Dillon JF, et al. Toward a more complete understanding of the association between a hepatitis C sustained viral response and cause- specific outcomes. Hepatology. 2015;62:355-364.
4. Bruno S, Di Marco V, Iavarone M, et al. Survival of patients with HCV cirrhosis and sustained virologic response is similar to the general population. J Hepatol. 2016;64:1217-1223.
5. Van der Meer AJ, Feld JJ, Hofer H, et al. Risk of cirrhosis- related complications in patients with advanced fibrosis following hepatitis C virus eradication. J Hepatol. 2017;66:485-493.
6. Reig M, Marino Z, Perello C, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV- related HCC undergoing interferon- free therapy. J Hepatol. 2016;65:719-726.
7. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV- related cirrhosis treated with direct- acting antivirals. J Hepatol. 2016;65:727-733.
8. Zanetto A, Shalaby S, Ferrarese A, Becchetti C, Sciarrone S, Germani G, et al. Direct-acting antivirals and hepatocellular carcinoma occurrence and recurrence in hepatitis C virus-related liver cirrhosis: fact or fiction. Hepatoma Res 2018;4:70

9. Pol S. Lack of evidence of an effect of Direct Acting Antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: the ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma (ANRS CO22 HEPATHER, CO12 CIRVIR and CO23 CUPILT cohorts). J Hepatol.2016;65:734-740
10. Zavaglia C, Okolicsanyi S, Cesarini L, et al. Is the risk of neoplastic recurrence increased after prescribing direct- acting antivirals for HCV patients whose HCC was previously cured? J Hepatol. 2017;66:236-237.
11. Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, et al. Outcomes after successful direct- acting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. J Hepatol. 2016;65:741-747.
12. Nahon P, Bourcier V, Layese R, et al. Eradication of Hepatitis C Virus Infection in Patients with Cirrhosis Reduces Risk of Liver and Non- Liver Complications. Gastroenterology. 2017;152:142-156.
13. Romano A, Capra F, Piovesan S, et al. Incidence and pattern of "de novo" hepatocellular carcinoma in HCV patients treated with oral DAAs. Hepatology 2016;64(S1):10°.
14. Li DK, Ren Y, Fierer DS, Rutledge S, Shaikh OS, Lo Re V 3rd, Simon T, Abou-Samra AB, Chung RT, Butt AA. The short-term incidence of hepatocellular carcinoma is not increased after hepatitis C treatment with direct-acting antivirals: An ERCHIVES study. Hepatology 2018;67(6):2244-2253
15. Singer AW, Reddy KR, Telep LE, et al. Direct-acting antiviral treatment for hepatitis C virus infection and risk of incident liver cancer: a retrospective cohort study. Aliment Pharmacol Ther. 2018;47:1278–1287.
16. Waziry R, Behzad H, Grebely J, Danta M, George J. Et al. Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: a systematic review, meta-analyses, and meta-regression. Journal of Hepatology 2017 vol. 67 j 1204–1212

17. Yu X, Qiao M, Atanasov I, et al. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. Virology 2007; 367:126-34.
18. Robertson B, Myers G, Howard C, et al. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: Proposals for standardization. International Committee on Virus Taxonomy. Arch Virol 1998; 143:2493-503.
19. Lerat H, Hollinger F. Hepatitis C virus (HCV) occult infection or occult HCV RNA detection? J Infect Dis 2004; 189:3-6.
20. Pham T, King D, Macparland S, et al. Hepatitis C virus replicates in the same immune cell subsets in chronic hepatitis C and occult infection. Gastroenterology 2008; 134:812-22.
21. Neumann A, Lam N, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferonalfa therapy. Science 1998; 282:103-7.
22. Guedj J, Dahari H, Rong L, et al. Modeling shows that the NS5A inhibitor daclatasvir has two modes of action and yields a shorter estimate of the hepatitis C virus half-life. Proc Natl Acad Sci U S A 2013; 110:3991-6.
23. Pawlotsky J. Hepatitis C virus genetic variability: Pathogenic and clinical implications. Clin Liver Dis 2003; 7:45-66.
24. Blatt L, Mutchnick M, Tong M, et al. Assessment of hepatitis C virus RNA and genotype from 6807 patients with chronic hepatitis C in the United States. J Viral Hepat 2000; 7:196-202.
25. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. J Hepatol 2011; 55:245-64.
26. Khattab MA, Ferenci P, Hadziyannis SJ, et al. Management of hepatitis C virus genotype 4: Recommendations of an international expert panel. J Hepatol 2011; 54:1250-62.

27. Verbeeck J, Peigue-Lafeuille H, Ross R, et al. HCV genotype 5: Epidemiology and spread of an uncommon genotype. J Clin Virol 2008; 41:170-1.
28. Farci P, Shimoda A, Coiana A, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. Science 2000; 288:339-44.
29. Sheridan I, Pybus O, Holmes E, et al. High-resolution phylogenetic analysis of hepatitis C virus adaptation and its relationship to disease progression. J Virol 2004; 78:3447-54.
30. Hanafiah KM, Groeger J, Flaxman AD, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody of HCV seroprevalence. Hepatology 2013; 57:1333-42.
31. Cox AL, Thomas DL. Hepatitis C virus vaccines among people who inject drugs. Clin Infect Dis 2013; 57(Suppl 2): S46-50.
32. Jadoul M, Barril G. Hepatitis C in hemodialysis: Epidemiology and prevention of hepatitis C virus transmission. Contrib Nephrol 2012; 176:35-41.
33. Sulkowski M, Ray S, Thomas D. Needlestick transmission of hepatitis C. JAMA 2002; 287:2406-13.
34. De Carli G, Puro V, Ippolito G. Risk of hepatitis C virus transmission following percutaneous exposure in healthcare workers. Infection 2003; 31:22-7.
35. Kubitschke A, Bahr MJ, Aslan N, et al. Induction of hepatitis C virus (HCV)-specific T cells by needle stick injury in the absence of HCV-viraemia. Eur J Clin Invest 2007; 37:54-64.
36. Ross RS, Viazov S, Gross T, et al. Transmission of hepatitis C virus from a patient to an anesthesiology assistant to five patients. N Engl J Med 2000; 343:1851-4.
37. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. Liver Int 2011; 31:30-60.

38. Vandelli C, Renzo F, Romano L, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: Results of a 10-year prospective follow-up study. Am J Gastroenterol 2004; 99:855-9.
39. Terrault NA, Dodge JL, Murphy EL, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among monogamous heterosexual couples: The HCV partners study. Hepatology 2013; 57:881-9.
40. Blackard J, Shata M, Shire N, et al. Acute hepatitis C virus infection: A chronic problem. Hepatology 2008; 47:321-31.
41. Gibb D, Goodall R, Dunn D, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: Evidence for preventable peripartum transmission. Lancet 2000; 356:904-7.
42. Conte D, Fraquelli M, Prati D, et al. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15,250 pregnant women. Hepatology 2000; 31:751-5.
43. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, et al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology 2011; 13:497-506.
44. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, et al. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. Hepatology 2005; 42:86-92.
45. Deterding K, Wiegand J, Gruner N, et al. The German Hep-Net acute hepatitis C cohort: Impact of viral and host factors on the initial presentation of acute hepatitis C virus infection. Z Gastroenterol 2009; 47:531-40.
46. Maasoumy B, Wedemeyer H. Natural history of acute and chronic hepatitis C. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2012; 26:401-12.
47. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. Gastroenterology 2010; 139:1586-92, 1592 e1.

48. Puoti C, Guarisco R, Spilabotti L, et al. Should we treat HCV carriers with normal ALT levels? The “5Ws” dilemma. J Viral Hepat 2012; 19:229-35.
49. Jacobson IM, Cacoub P, Dal Maso L, et al. Manifestations of chronic hepatitis C virus infection beyond the liver. Clin Gastroenterol Hepatol 2010; 8:1017-29.
50. Peveling-Oberhag J, Arcaini L, Hansmann ML, et al. Hepatitis C-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas. Epidemiology, molecular signature and clinical management. J Hepatol 2013; 59:169-77.
51. Giordano T, Henderson L, Landgren O, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. JAMA 2007; 297:2010-7.
52. Cassani F, Cataleta M, Valentini P, et al. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: Comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. Hepatology 1997; 26:561-6.
53. Lee MH, Yang HI, Lu SN, et al. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: A community-based long-term prospective study. J Infect Dis 2012; 206:469-77.
54. Chevaliez S, Rodriguez C, Pawlotsky JM. New virologic tools for management of chronic hepatitis B and C. Gastroenterology 2012; 142:1303-13 e1.
55. Cobb B, Pockros PJ, Vilchez RA, et al. HCV RNA viral load assessments in the era of direct-acting antivirals. Am J Gastroenterol 2013; 108:471-5.
56. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, et al. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: A meta-analysis and meta-regression. Hepatology 2008; 48:418-31.
57. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, et al. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. J Hepatol 2006; 45:529-38.

58. Pradat P, Voirin N, Tillmann HL, et al. Progression to cirrhosis in hepatitis C patients: An age-dependent process. Liver Int 2007; 27:335-9.

59. Di Martino V, Lebray P, Myers R, et al. Progression of liver fibrosis in women infected with hepatitis C: Long-term benefit of estrogen exposure. Hepatology 2004; 40:1426-

60. Wiley T, Brown J, Chan J. Hepatitis C infection in African Americans: Its natural history and histological progression. Am J Gastroenterol 2002; 97:700-6.

61. Hui CK, Belaye T, Montegrande K, et al. A comparison in the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C between persistently normal and elevated transaminase. J Hepatol 2003; 38:511-7.

62. Probst A, Dang T, Bochud M, et al. Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression—a systematic review and meta-analysis. J Viral Hepat 2011; 18:745-59.

63. Backus LI, Boothroyd DB, Phillips BR, et al. A sustained virologic response reduces risk of all-cause mortality in patients with hepatitis C. Clin Gastroenterol Hepatol 2011; 9:509-16 e1.

64. Rumi M G, De Filippi F, La Vecchia C, et al. Hepatitis C reactivation in patients with chronic infection with genotypes 1b and 2c: A retrospective cohort study of 206 untreated patients. Gut 2005; 54:402-6.

65. Maylin S, Laouenan C, Martinot-Peignoux M, et al. Role of hepatic HCV-RNA level on the severity of chronic hepatitis C and response to antiviral therapy. J Clin Virol 2012; 53:43-7.

66. Tanaka Y, Kurbanov F, Mano S, et al. Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. Gastroenterology 2006; 130:703-14.

67. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. Gastroenterology 2009; 136:138-48.

68. Sangiovanni A, Prati G, Fasani P, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. Hepatology 2006; 43:1303-10.
69. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow-up study of 384 patients. Gastroenterology 1997; 112:463-72.
70. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, et al. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: Incidence and risk factors. Gastroenterology 2004; 127:S35-50.
71. Benvegnu L, Gios M, Boccato S, et al. Natural history of compensated viral cirrhosis: A prospective study on the incidence and hierarchy of major complications. Gut 2004; 53:744-9
72. Lai SW, Chen PC, Liao KF, et al. Risk of hepatocellular carcinoma in diabetic patients and risk reduction associated with anti-diabetic therapy: A population-based cohort study. Am J Gastroenterol 2012; 107:46-52.
73. Veldt BJ, Chen W, Heathcote EJ, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C cirrhosis and diabetes mellitus. Hepatology 2008; 47:1856-62.
74. Scheel TK, Rice CM. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. Nat Med 2013; 19:837-49.
75. Stewart BW, Kleihues P, editors. World Cancer Report. Lyon: IARC Press; 2003.
76. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. Gastroenterology 2007;132(7):2557-76.
77. Bosetti C, Levi F, Boffetta P, et al. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980-2004. Hepatology 2008; 48:137-45.
78. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin 2013; 63:11-30.

79. Global burden of disease (The): 2004 update: World Health Organization;2008.

80. Nguyen VT, Law MG, Dore GJ. Hepatitis B-related hepatocellular carcinoma: epidemiological characteristics and disease burden. J Viral Hepat 2009;16(7):453-63.

81. Yeung YP, Lo CM, Liu CL, et al. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma. Am J Gastroenterol 2005;100(9):1995-2004.

82. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. Cancer 1985;56(4):918-28.

83. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, et al. Cancer Incidence in Five Continents Vol. VIII. IARC Scientific Publication 2002 (No. 155).

84. Yu MW, Chang HC, Chang SC, et al. Role of reproductive factors in hepatocellular carcinoma: Impact on hepatitis B- and C-related risk. Hepatology 2003;38(6):1393-400.

85. Bosch FX, Ribes J, Cleries R, et al. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. Clin Liver Dis 2005;9(2):191-211.

86. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. Expanding the natural history of non-alcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2002

87. Wong et al. – Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States – Gastroenterology 2015 - 148(3):547-55

88. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona 2000 EASL Conference. J Hepatol 2001;35:421-430.

89. Hui JM, Kench JG, Chitturi S, Sud A, Farrell GC, Byth K, Hall P, Khan M, George J. Long-term outcomes of cirrhosis in nonalcoholic stetohepatitis compared with hepatitis C. Hepatology 2003; 38: 420-427.

90. Sherman M, Peltekian KM, Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis virus B: Incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. Hepatology 1995;22:432-438.
91. European Association for the Study of the Liver - EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. Journal of Hepatology, 2018, vol. 69 j 182–236
92. J. Bruix, M. Sherman - AASLD practice guidelines - Management of Hepatocellular Carcinoma: an update - HEPATOLOGY, Vol. 53 No. 3 (2011)
93. Bolondi L, Cillo U, Colombo M, et al. Position paper of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF): the multidisciplinary clinical approach to hepatocellular carcinoma. Dig Liver Dis. 2013;45(9):712-23
94. Pinato DJ, Stebbing J, Ishizuka M, Khan SA, Wasan HS et al. A novel and validated prognostic index in hepatocellular carcinoma: the inflammation based index (IBI). J Hepatol 2012;57:1013-20.
95. Serti E, Chepa-Lotrea X, Kim YJ, Keane M, Fryzek N, Liang TJ, et al. Successful interferon-free therapy of chronic hepatitis C virus infection normalizes natural killer cell function. Gastroenterology 2015;149:e2
96. Meissner EG, Wu D, Osinusi A, Bon D, Virtaneva K, Sturdevant D, et al. Endogenous intrahepatic IFNs and association with IFN-free HCV treatment outcome. J Clin Invest 2014;124:3352–3363
97. Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW et al. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2009;49:1571-82.
98. Faillaci F, Marzi L, Critelli R, Milosa F, Schepis F, et al. Liver angiopoietin-2 is a key predictor of de novo or recurrent hepatocellular cancer after hepatitis C virus direct-acting antivirals. Hepatology 2018;68:1010-24

99. Jühling F, Bandiera S, Hamdane N, Thumann C, Durand SC, et al. Hepatitis C virus-induced epigenetic and transcriptional changes persist post cure. J Hepatol 2017;66:S21
100. Kolly P, Waidmann O, Vermehren J, Moreno C, Vögeli I, Berg T. et al. Hepatocellular carcinoma recurrence after direct antiviral agent treatment: A European multicentre study. Journal of Hepatology 2017 vol. 67 j 876–888
101. Debes JD, van Tilborg M, Groothuismink ZMA, Hansen BE, Schulze Zur Wiesch J, et al. Levels of cytokines in serum associate with development of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection treated with direct-acting antivirals. Gastroenterology 2018;154:515-7.
102. Nagaoki Y, Imamura M, Aikata H, Daijo K, Teraoka Y, et al. The risks of hepatocellular carcinoma development after HCV eradication are similar between patients treated with peg-interferon plus ribavirin and direct-acting antiviral therapy. PLoS One 2017;12:e0182710.
103. Torres HA, Vauthey JN, Economides MP, Mahale P, Kaseb A. Hepatocellular carcinoma recurrence after treatment with directacting antivirals: First, do no harm by withdrawing treatment. J Hepatol 2016;65:862-864.
104. Virlogeux V, Pradat P, Hartig-Lavie K, Bailly F, Maynard M, Ouziel G, et al. Direct-acting antiviral therapy decreases hepatocellular carcinoma recurrence rate in cirrhotic patients with chronic hepatitis C. Liver Int 2017;37:1122-1127
105. Annsa C. Huang, Neil Mehta, Jennifer L. Dodge, Francis Y. Yao, and Norah A. Terrault. Direct-Acting Antivirals Do Not Increase the Risk of Hepatocellular Carcinoma Recurrence After Local-Regional Therapy or Liver Transplant Waitlist Dropout. Hepatology 2018;68(2):449-461
106. Innes H, Barclay ST, Hayes PC, Fraser A, Dillon JF, Stanley A. et al. The risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with hepatitis C and sustained viral response: Role of the treatment regimen. J Hepatol. 2018 Apr;68(4):646-654

8. TABELLE E GRAFICI

	Tutti i pazienti	Pazienti cirrotici	Pazienti non cirrotici	Pazienti cirrotici con HCC	Pazienti cirrotici senza HCC
Maschi	138	62	76	8	54
Femmine	93	32	61	2	30
Totale	231	94	137	10	84

Tabella 1 – numero dei pazienti nello studio. Nel dettaglio, numero dei pazienti cirrotici, dei pazienti non cirrotici, dei pazienti cirrotici senza HCC dopo terapia antivirale e dei pazienti cirrotici senza HCC post terapia antivirale.

	Maschi (n = 116)	Femmine (n = 73)	Valore di p
Età (media e DS)	58 (12.1)	65 (12.9)	**< 0.00004**

Tabella 2 – età media dei pazienti dello studio: i maschi sono significativamente più giovani delle femmine.

VARIABILI	Pazienti con cirrosi (n=94)	Pazienti senza cirrosi (n=137)	Valore di p
Demografiche			
Età in anni (media e DS) Genere maschile (N e %)	63 (12.2) 62 (66%)	59 (13.1) 76 (55.5%)	**<0.01** >0.11
Fattori di rischio di epatopatia			
Diabete (N e %) Obesità (N e %) Alcol (N e %) Infezione da HBV (N e %)	26 (27.7%) 14 (14.9%) 21 (22.3%) 4 (4.3%)	17 (12.4%) 4 (2.9%) 10 (7.3%) 10 (7.3%)	**<0.004** **<0.0009** **<0.001** >0.3

Tabella 3 – caratteristiche demografiche e i fattori di rischio di epatopatia nei pazienti con e senza cirrosi. La differenza è statisticamente significativa per quanto riguarda età media con non cirrotici più giovani dei cirrotici, diabete, obesità e alcol, più diffusi tra i cirrotici.

VARIABILI	Pazienti con cirrosi e HCC post terapia con DAA (n=10)	Pazienti con cirrosi senza HCC post terapia con DAA (n=84)	Valore di p
Demografiche			
Età in anni (media e DS) Genere maschile (N e %)	65 (13.2) 8 (80%)	63 (12.1) 54 (64.3%)	>0.5 >0.3
Fattori di rischio di epatopatia			
Diabete (N e %) Obesità (N e %) Alcol (N e %) Infezione da HBV (N e %)	1 (10%) 2 (20%) 3 (30%) 0	25 (29.8%) 12 (14.3%) 18 (21.4%) 4 (4.8%)	>0.2 >0.6 >0.5 >0.4
Funzionalità epatica			
CTP-A (N e %) CTP-B (N e %) CTP-C (N e %)	8 (80%) 2 (20%) 0	67 (79.8%) 14 (16.7%) 2 (2.4%)	>0.8

Tabella 4 – caratteristiche demografiche, fattori di rischio e funzionalità epatica nei pazienti cirrotici con e senza diagnosi di HCC post terapia con DAA. Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

	BCLC pre-terapia con DAA senza recidiva (N)	BCLC pre-terapia con DAA con recidiva (N)
Stadio 0	0	0
Stadio A	9	4
Stadio B	1	1
Stadio C	1	0
Stadio D	0	0

Tabella 5 - stadio di HCC (BCLC) nei pazienti con e senza recidiva del tumore dopo terapia con i DAA. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa ($p > 0.6$).

VARIABILI	Pazienti con recidiva di HCC post-DAA (n=5)	Pazienti senza recidiva di HCC post-DAA (n=11)	Valore di p
Demografiche			
Età in anni (media e DS)	67 (13.6)	65 (8.7)	>0.7
Genere maschile (N e %)	4 (80%)	8 (72.7%)	>0.7
Fattori di rischio di epatopatia			
Diabete (N e %)	1 (20%)	5 (45.5%)	>0.3
Obesità (N e %)	2 (40%)	0	**<0.03**
Alcol (N e %)	1 (20%)	0	>0,1
Infezione da HBV (N e %)	0	0	-
Cirrosi	5 (100%)	4 (36.4%)	**<0.02**

Tabella 6 - caratteristiche demografiche e fattori di rischio nei pazienti con e senza recidiva di HCC dopo terapia antivirale. Obesità e cirrosi epatica sono significativamente più frequenti tra i pazienti con recidiva.

VARIABILI	Pazienti con HCC de novo post terapia con DAA (n=5)	Pazienti con cirrosi senza HCC post terapia con DAA (n=84)	Valore di p
Demografiche			
Età in anni (media e DS) Genere maschile (N e %)	63 (14.1) 4 (80%)	63 (12.1) 54 (64.3%)	>0.9 >0.4
Fattori di rischio di epatopatia			
Diabete (N e %) Obesità (N e %) Alcol (N e %) Infezione da HBV (N e %)	0 0 2 (40%) 0	25 (29.8%) 12 (14.3%) 18 (21.4%) 4 (4.8%)	>0.1 >0.3 >0.3 >0.6
Funzionalità epatica			
CTP-A (N e %) CTP-B (N e %) CTP-C (N e %)	3 (60%) 2 (40%) 0	67 (79.8%) 14 (16.7%) 2 (2.4%)	>0.4

Tabella 7 – caratteristiche demografiche, fattori di rischio e funzionalità epatica nei pazienti con HCC de novo dopo terapia con DAA e nei pazienti con cirrosi senza HCC post terapia antivirale. Non sono emerse differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda i parametri in tabella.

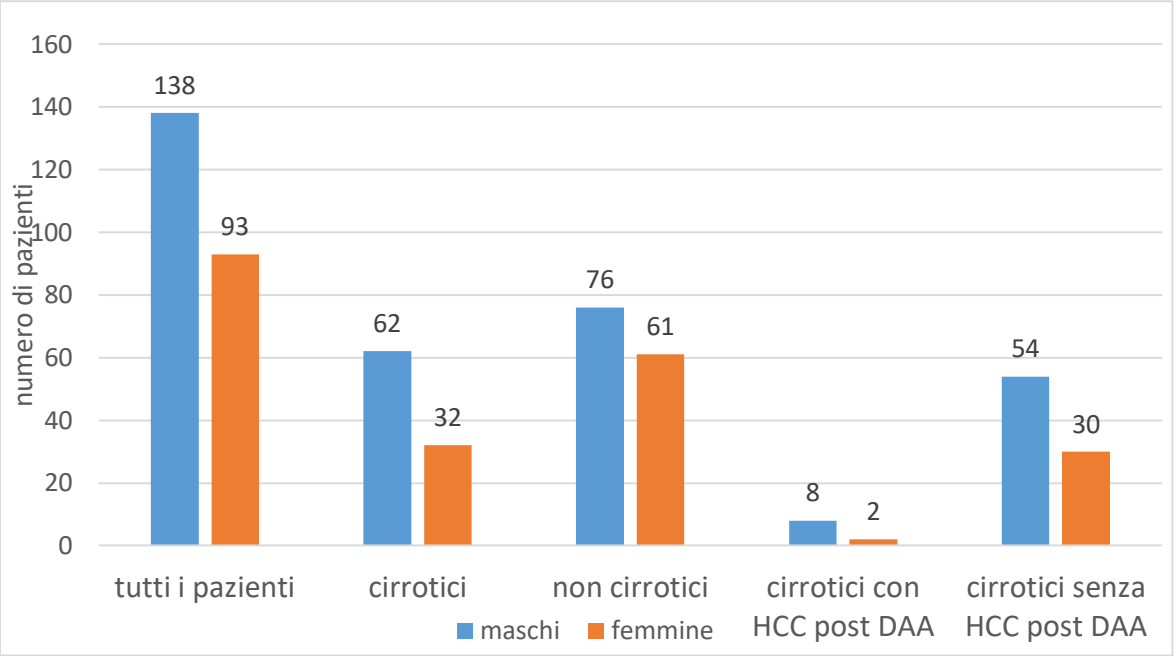

Grafico 1 – numero dei pazienti nello studio e numero di maschi e femmine per ciascuna categoria: tutti i pazienti, cirrotici, non cirrotici, cirrotici con e senza HCC dopo terapia antivirale.

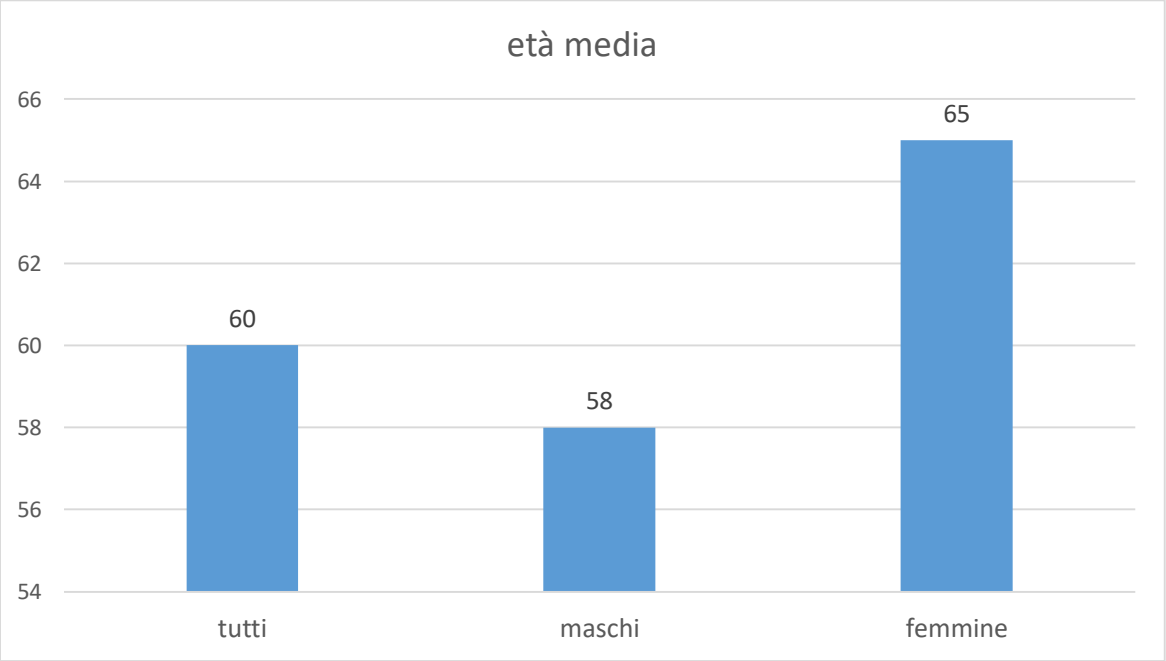

Grafico 2 – età media dei pazienti: tutti, maschi e femmine.

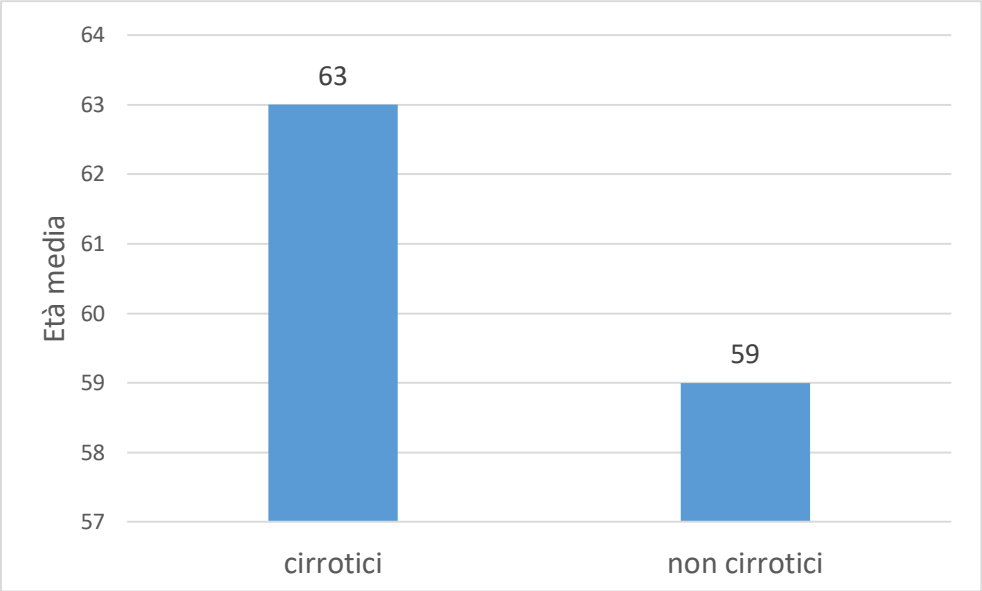

Grafico 3 – età media dei pazienti cirrotici e non cirrotici. I pazienti non cirrotici sono significativamente più giovani dei pazienti cirrotici ($p < 0.01$).

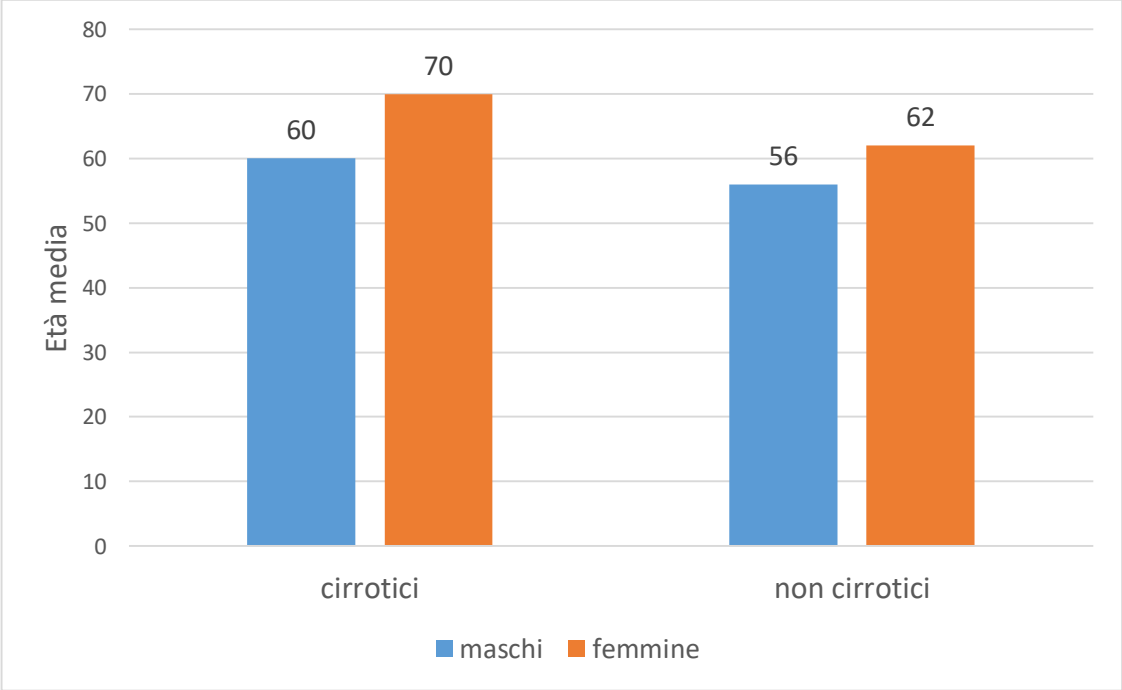

Grafico 4 – età media tra maschi e femmine con e senza cirrosi. I pazienti maschi cirrotici sono significativamente più giovani delle femmine cirrotiche ($p< 0.0001$) e anche tra i non cirrotici i maschi risultano più giovani delle femmine ($p< 0.007$). Le femmine senza cirrosi sono significativamente più giovani delle femmine cirrotiche ($p< 0.006$).

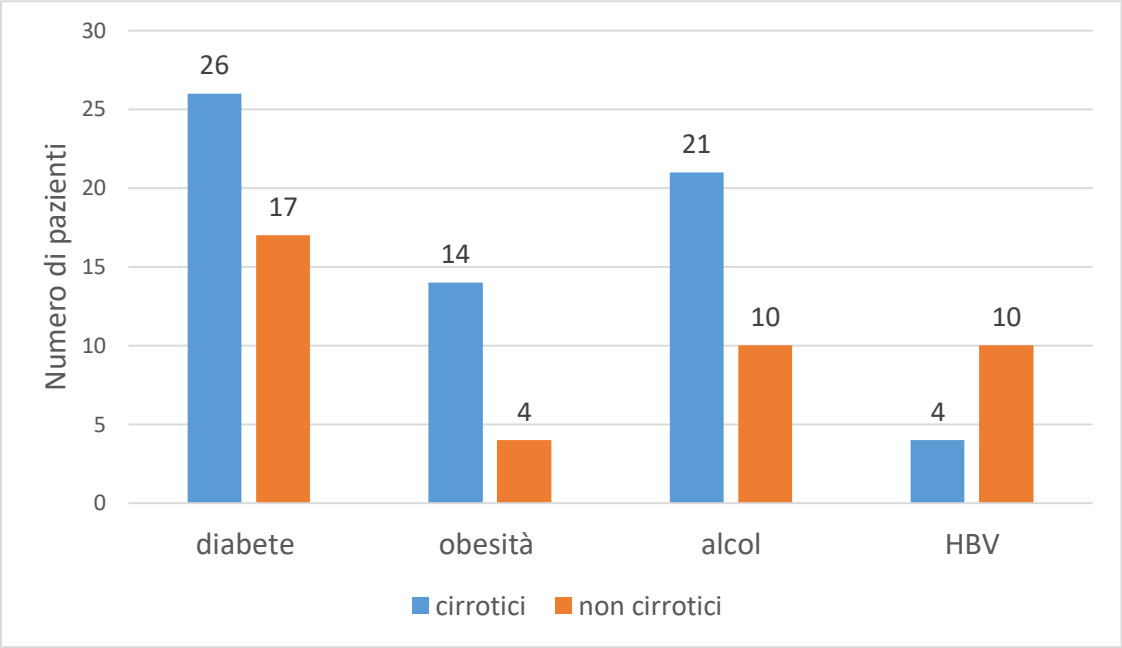

Grafico 5 – cofattori di epatopatia nei pazienti con e senza cirrosi. Nel gruppo dei pazienti con la cirrosi, ci sono significativamente più pazienti con diagnosi di diabete ($p < 0.004$), obesità ($p < 0.0009$) e che consumano alcol ($p < 0.001$) rispetto al gruppo dei pazienti senza cirrosi.

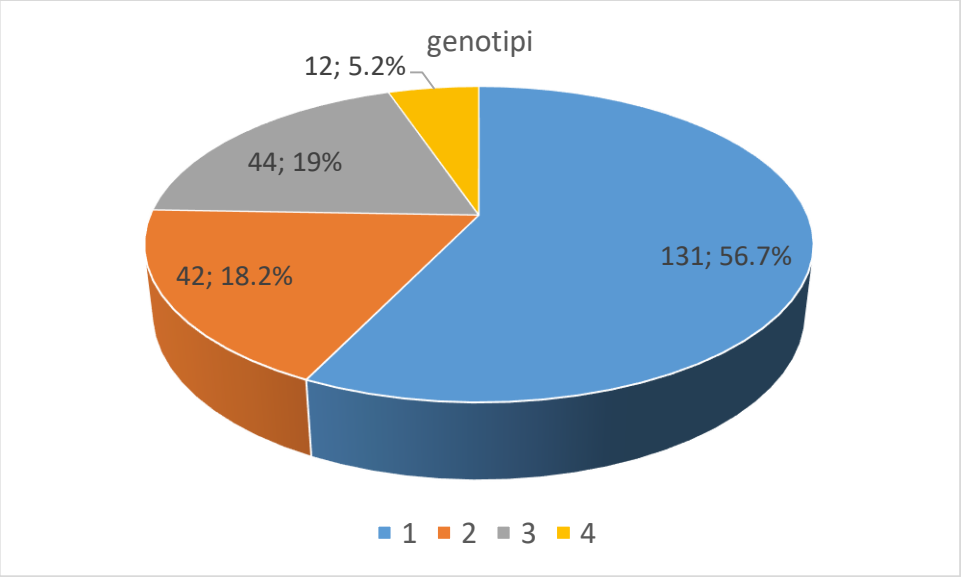

Grafico 6 – genotipi di HCV dei pazienti nello studio. Il genotipo 1 è il più frequente (131 pazienti, 56.7%).

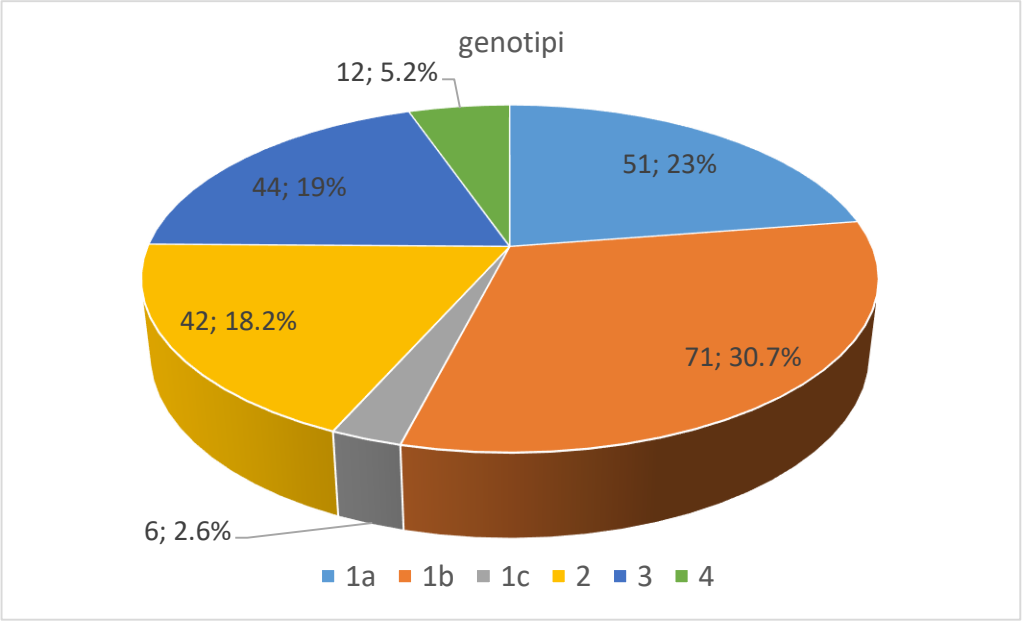

Grafico 7 – genotipi di HCV dei pazienti nello studio. Dei 131 pazienti che hanno un'infezione da genotipo 1, il 54.2 % (71 pazienti) sono infetti da genotipo 1b che risulta il genotipo più frequente (30.7% di tutti i pazienti).

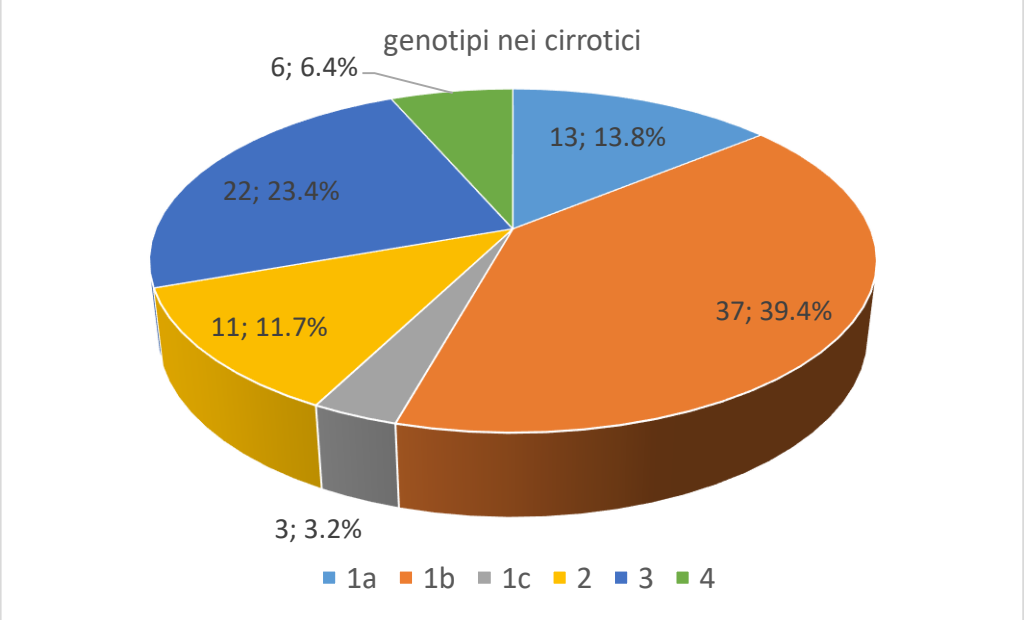

Grafico 8 – genotipi di HCV nei pazienti cirrotici. Il più rappresentato è il genotipo 1b (37 pazienti, 39.4%).

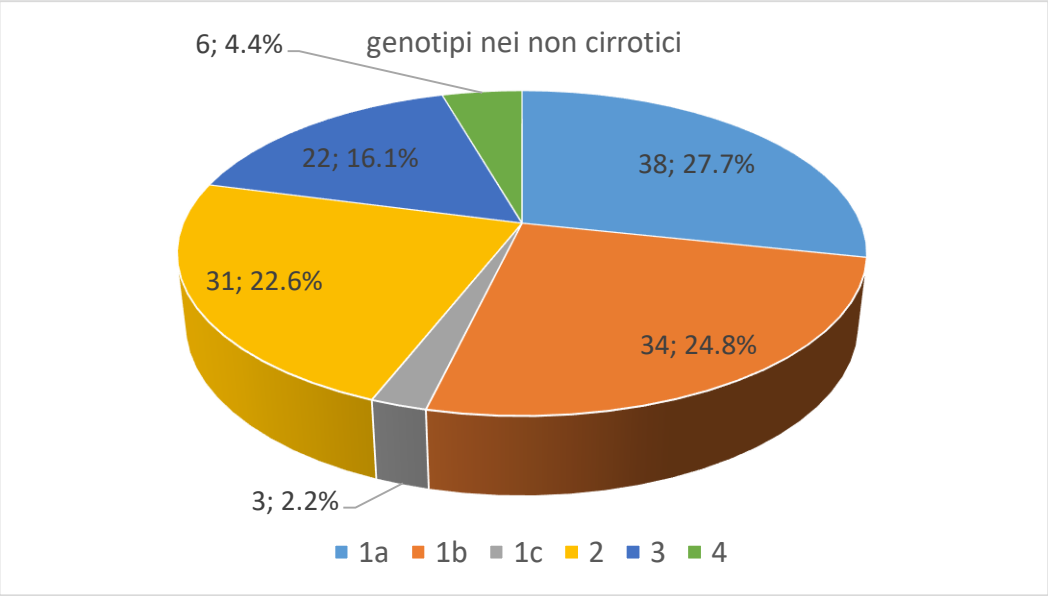

Grafico 9 – genotipi di HCV nei pazienti non cirrotici. Il più rappresentato è il genotipo 1a (38 pazienti, 27.7%)

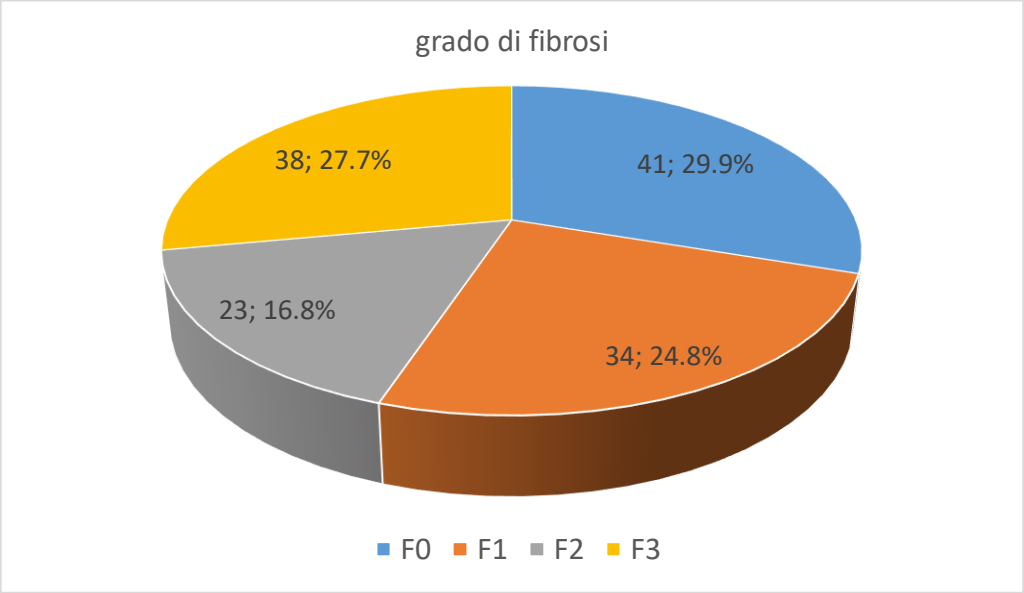

Grafico 10 – numero dei pazienti per i diverti stadi di fibrosi (escluso F4). 41 hanno una fibrosi F0 secondo Metavir (29.9%), 34 pazienti hanno fibrosi F1 (24.8%), 23 pazienti hanno fibrosi F2 (16.8%) e 38 pazienti hanno fibrosi F3 (27.7%).

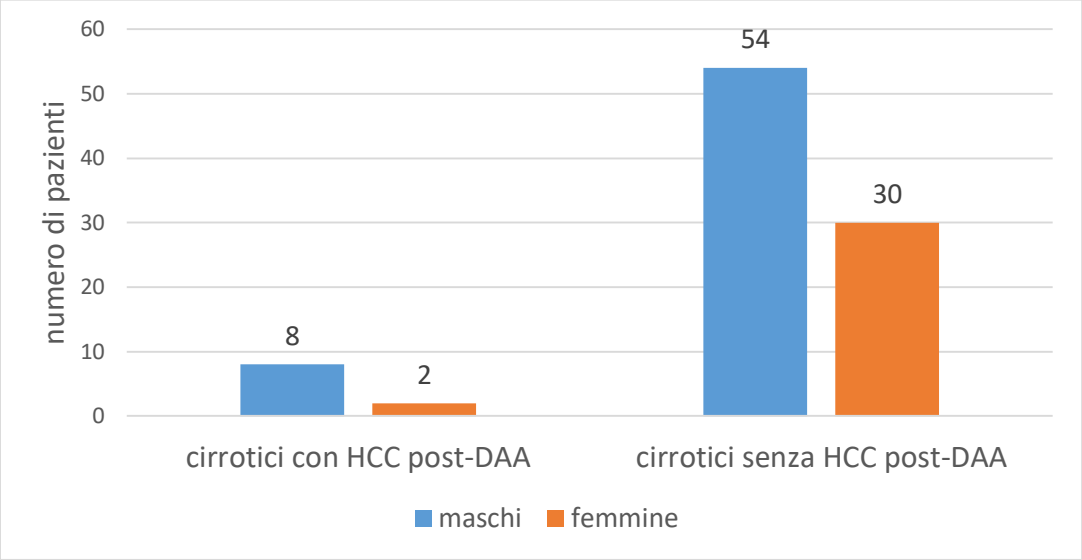

Grafico 11 – pazienti cirrotici con e senza HCC post terapia con i DAA. Durante il follow-up a 10 pazienti (tutti con cirrosi epatica) è stata fatta diagnosi di HCC (4.3% di tutti i pazienti, 10.6% dei pazienti cirrotici). Nei due gruppi maschi e femmine sono ugualmente rappresentati ($p > 0.3$).

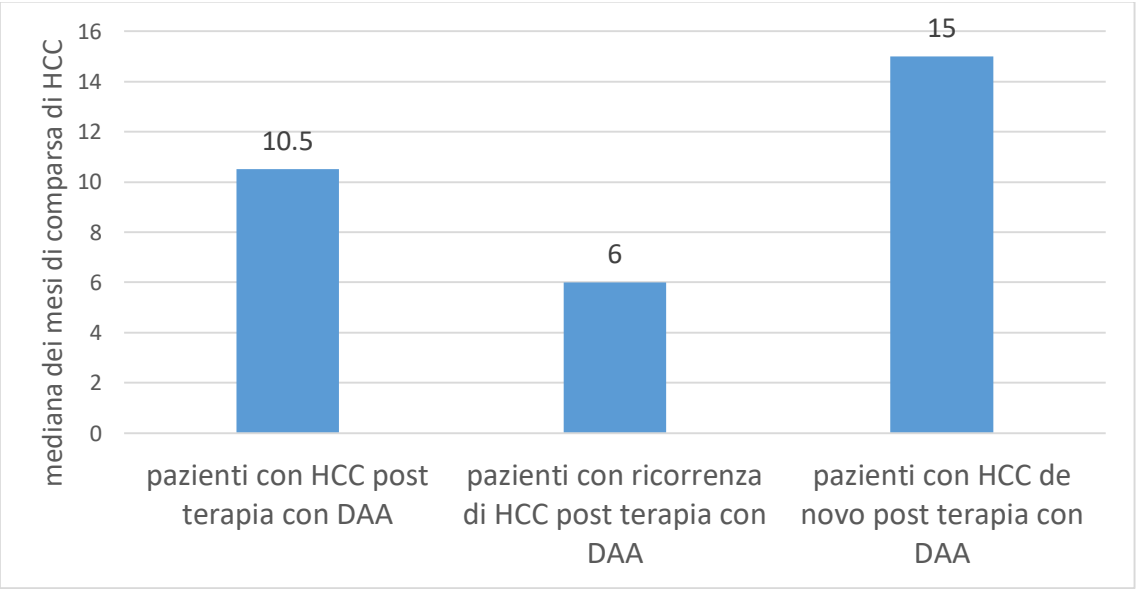

Grafico 12 – mediana dei mesi dalla fine della terapia antivirale di comparsa di HCC in tutti i pazienti, in quelli con ricorrenza e in quelli con HCC de novo, rispettivamente di 10.5 (range 0-35), 6 (range 2-33) e 15 (range 0-35). Non c'è differenza statisticamente significativa tra la mediana delle recidive e degli HCC de novo ($p > 0.9$).

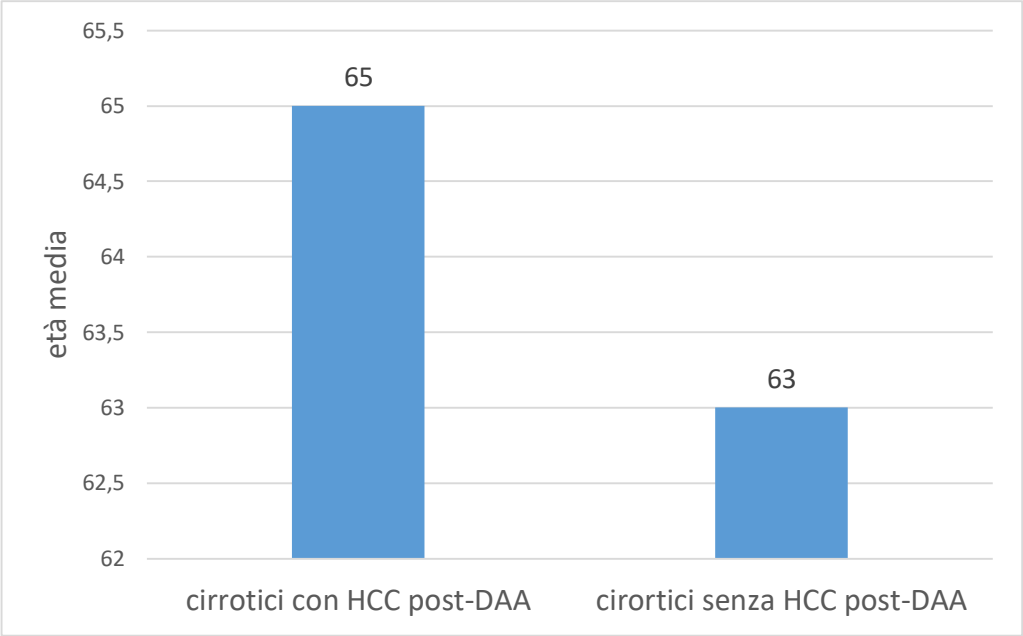

Grafico 13 – età media dei pazienti cirrotici con e senza HCC post terapia con DAA. Non vi è differenza statisticamente significativa ($p > 0.5$).

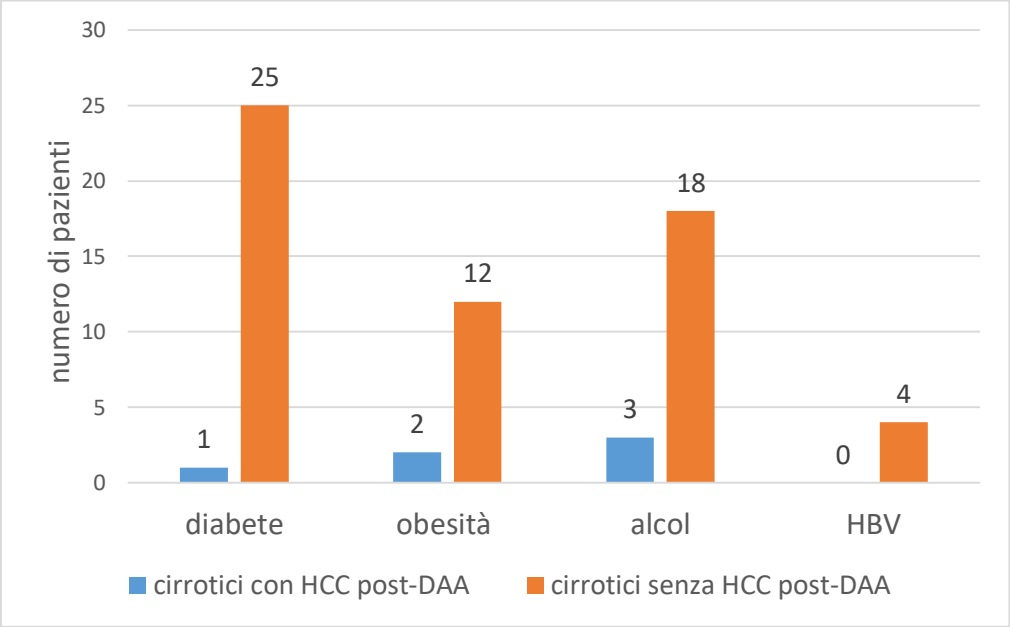

Grafico 14 – diabete, obesità, consumo di alcol e infezione da HBV nei pazienti cirrotici con e senza HCC post terapia con DAA. Non sono risultate differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

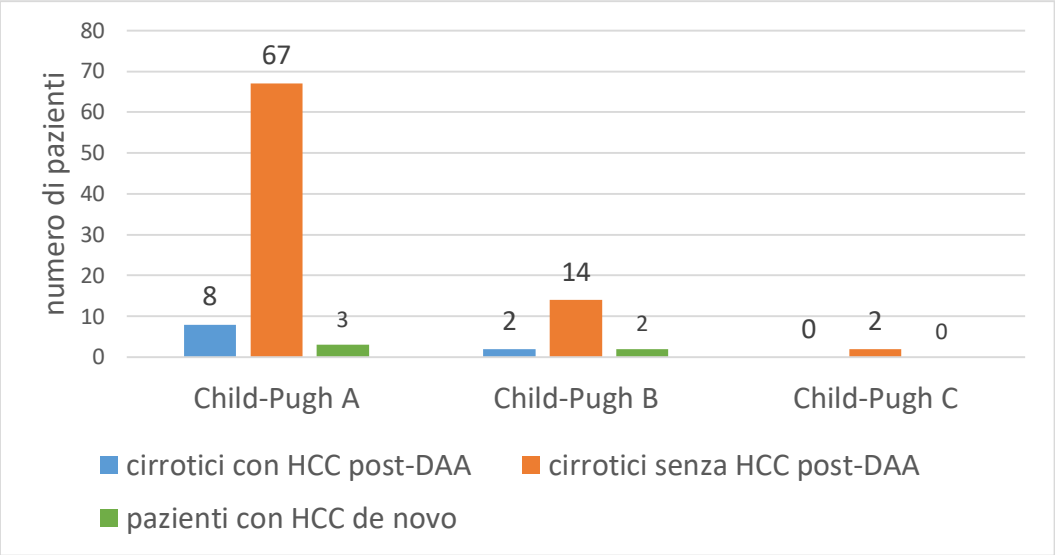

Grafico 15 – funzione epatica secondo Child Pugh nei pazienti con e senza HCC post terapia con DAA e nei pazienti con HCC de novo. Non è stata riscontrata differenza statisticamente significativa tra i primi due gruppi ($p > 0.8$), né tra i pazienti con HCC de novo e quelli cirrotici senza HCC ($p > 0.4$).

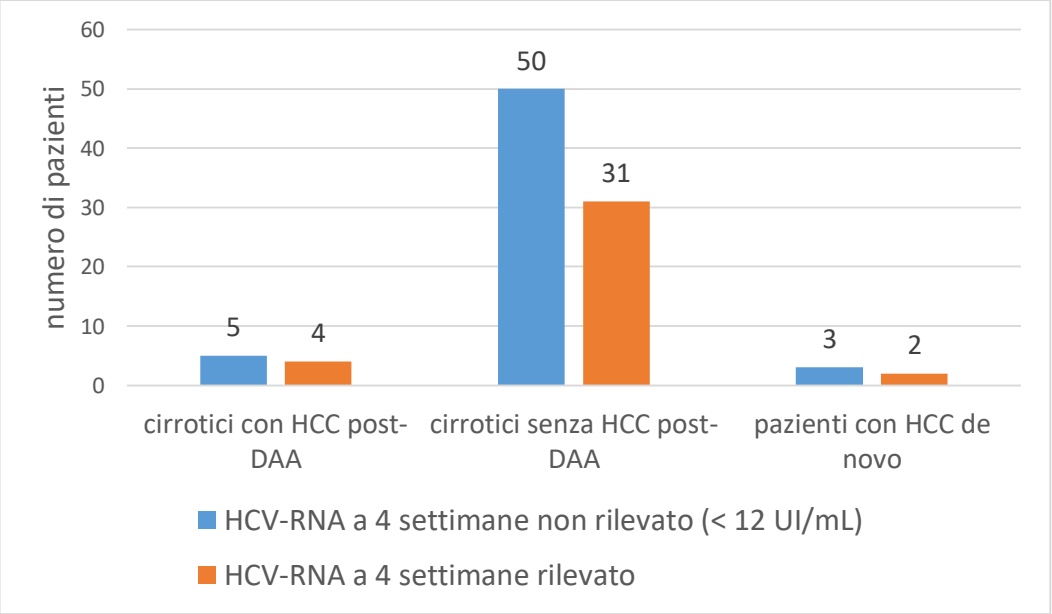

Grafico 16 – HCV-RNA quantitativo a 4 settimane di terapia con i DAA nei pazienti con e senza HCC dopo terapia antivirale e nei pazienti con HCC de novo. Non vi è differenza statisticamente significativa tra i primi due gruppi ($p > 0.8$), né tra i pazienti con HCC de novo e quelli con cirrosi senza HCC ($p > 0.8$).

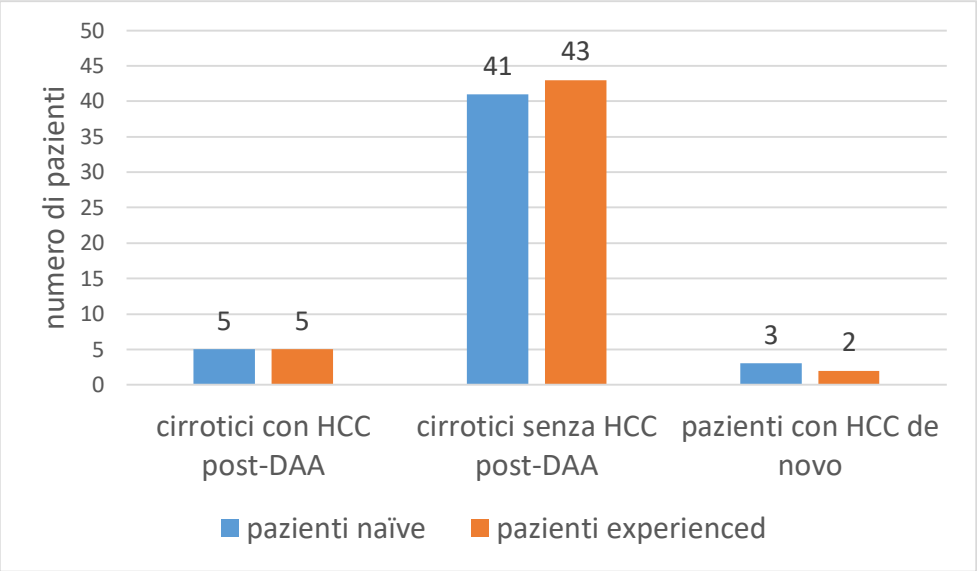

Grafico 17 – pazienti naïve o experienced con o senza HCC post terapia con DAA. Non vi è differenza statisticamente significativa tra i primi due gruppi ($p > 0.9$), né tra i pazienti con HCC de novo e quelli con cirrosi senza HCC ($p > 0.6$).

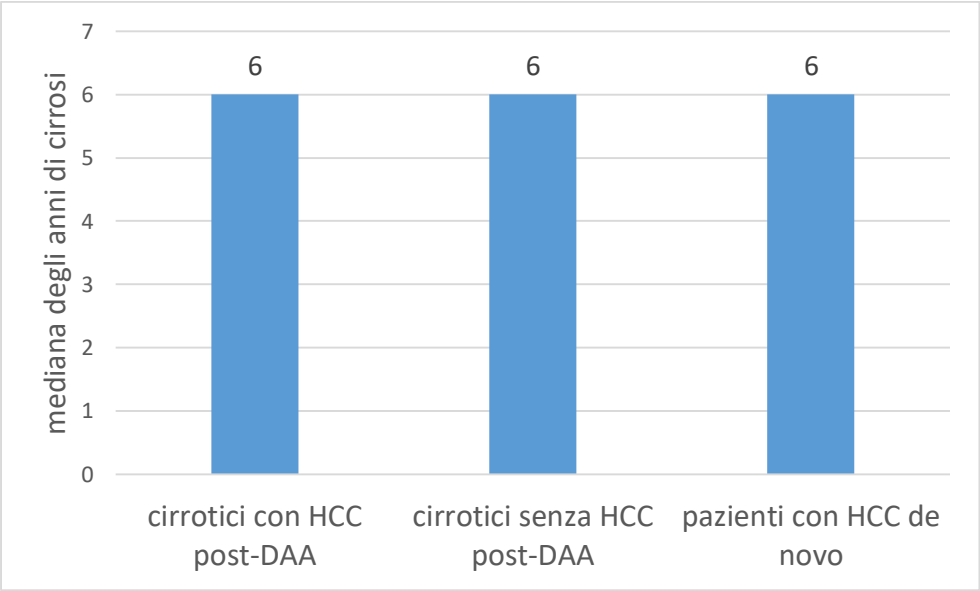

Grafico 18 – mediana degli anni di cirrosi nei pazienti con e senza HCC post terapia con DAA e nei pazienti con HCC de novo. Questo parametro coincide nei tre gruppi di pazienti.

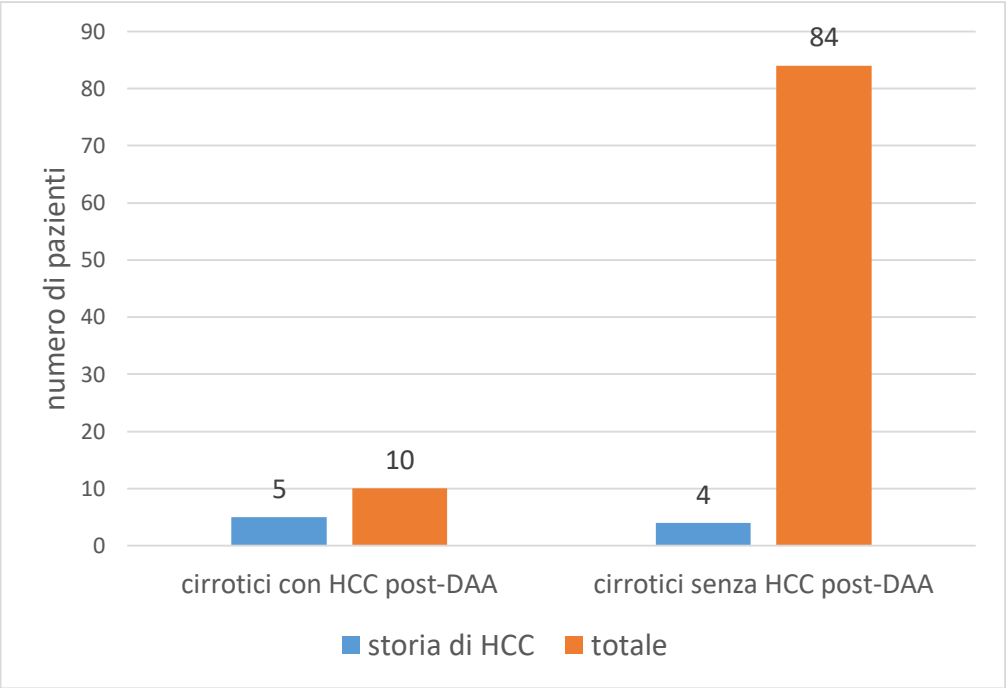

Grafico 19 – numero dei pazienti cirrotici con storia di HCC pre-DAA con e senza HCC post terapia con DAA, rapportati al totale dei pazienti per ciascuna categoria. È evidente la differenza statisticamente significativa tra i due gruppi, con storia di HCC molto più frequente nei pazienti cirrotici con HCC post-DAA ($p < 0.000004$).

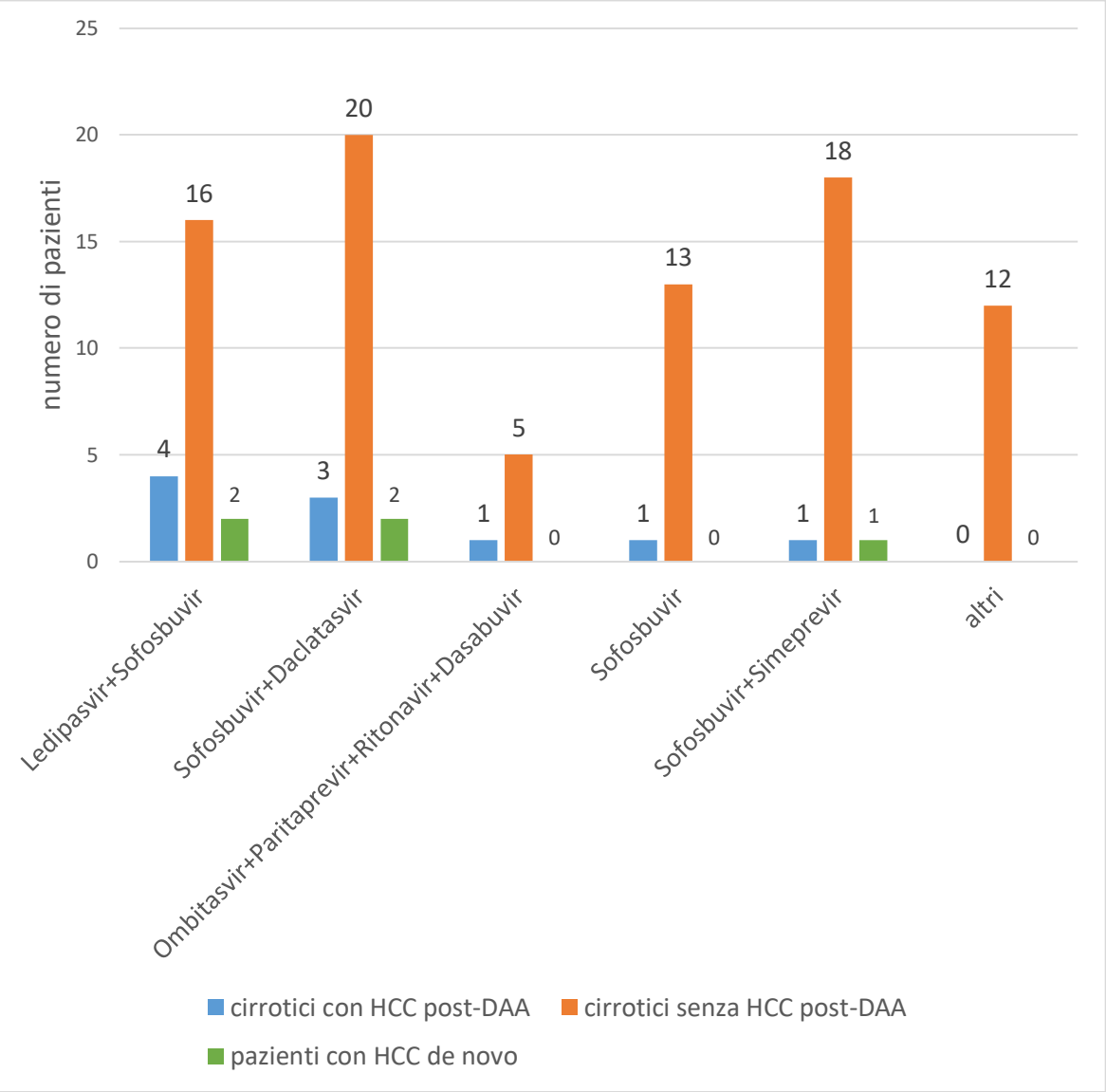

Grafico 20 – diverse combinazioni di antivirali utilizzate in pazienti cirrotici con e senza HCC post terapia con DAA e in pazienti con HCC de novo. Non c'è differenza statisticamente significativa tra i primi due gruppi ($p > 0.4$) né tra il secondo e il terzo ($p > 0.6$).

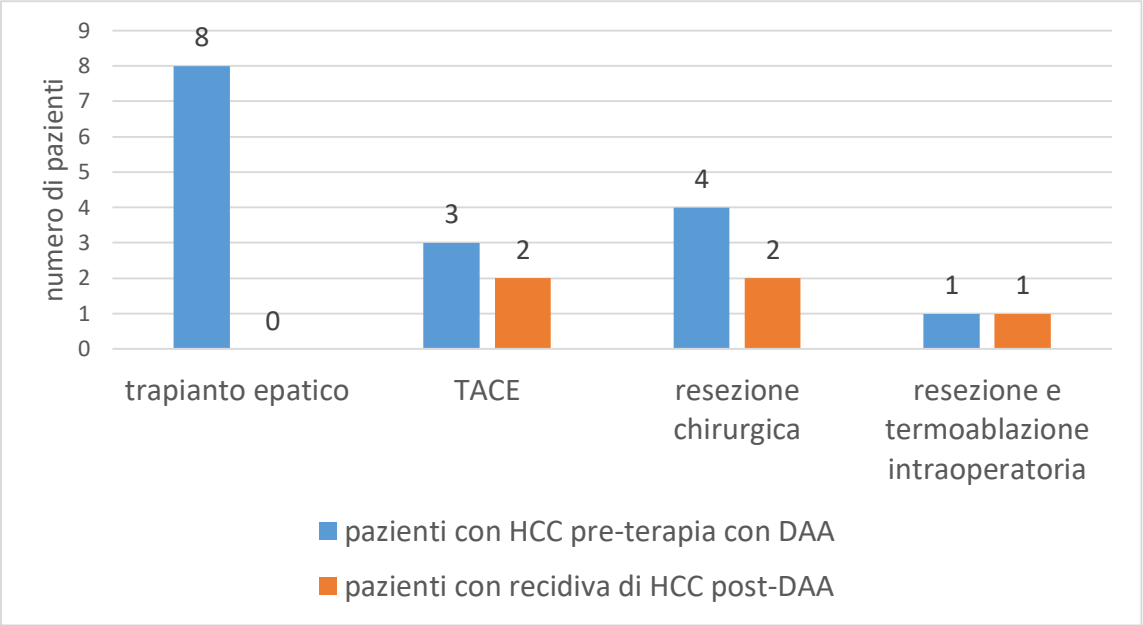

Grafico 21 – trattamento dell'HCC pre terapia con DAA nei pazienti con e senza recidiva dopo terapia antivirale. Nessuno degli 8 pazienti sottoposti a trapianto ha avuto recidiva, che si è invece verificata in 2/4 pazienti in cui l'HCC è stato resecato chirurgicamente, in 2/3 pazienti in cui è stato trattato con TACE e nell'unico paziente trattato con resezione e termoablazione. La differenza tra i due gruppi è statisticamente significativa ($p < 0.05$).

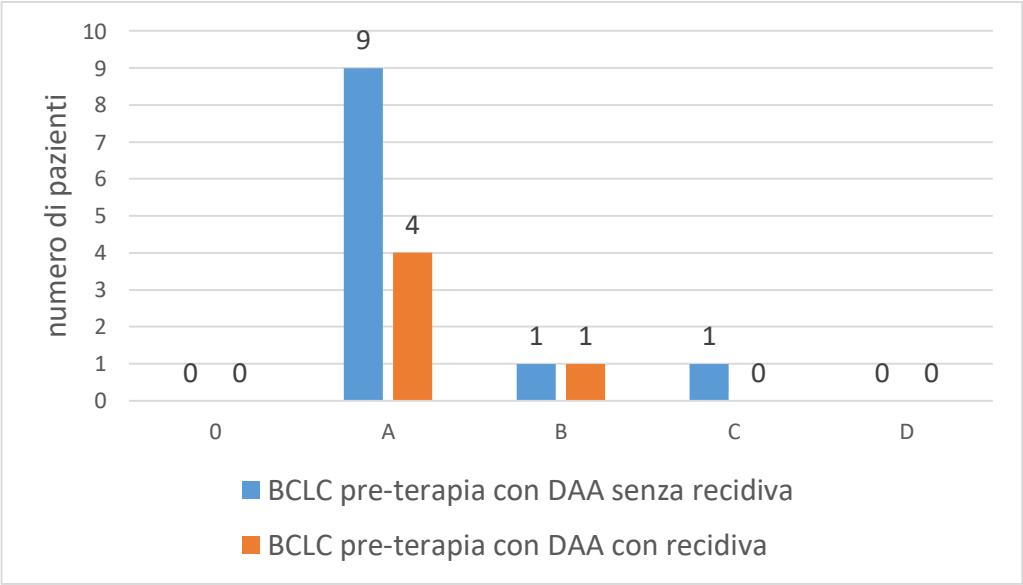

Grafico 22 – stadio di HCC (BCLC) pre-DAA nei pazienti con e senza recidiva del tumore dopo terapia antivirale. Non c'è differenza statisticamente significativa ($p > 0.6$).

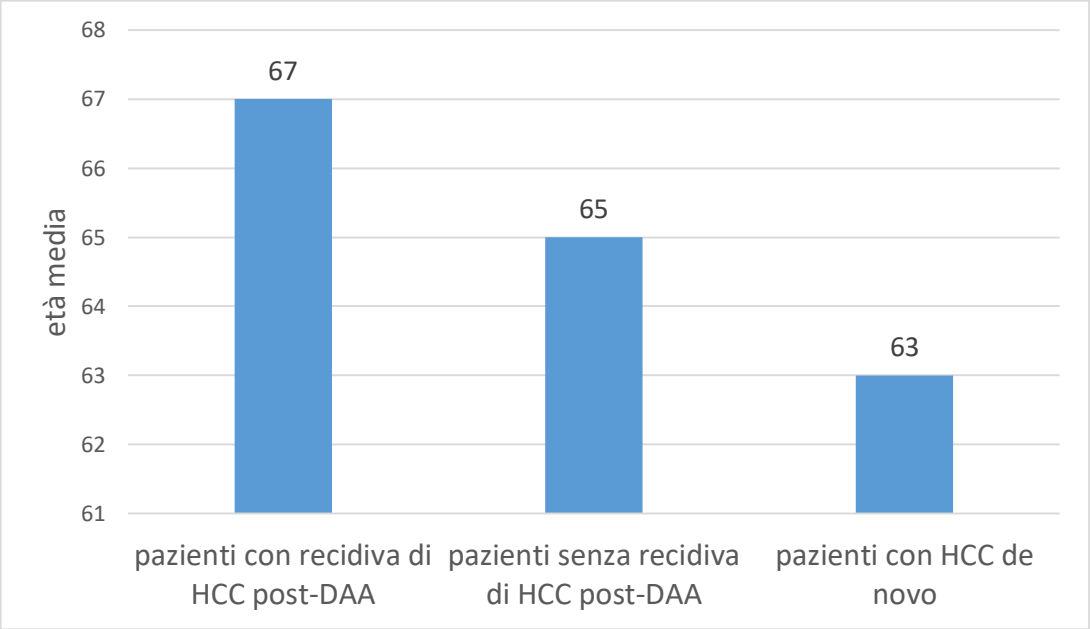

Grafico 23 – età media dei pazienti con HCC pre-DAA con e senza recidiva dopo terapia antivirale e dei pazienti con HCC de novo. Nessun gruppo è significativamente più giovane di un altro ($p > 0.7$ tra pazienti con e senza recidiva e $p > 0.6$ tra pazienti con recidiva e con HCC de novo).

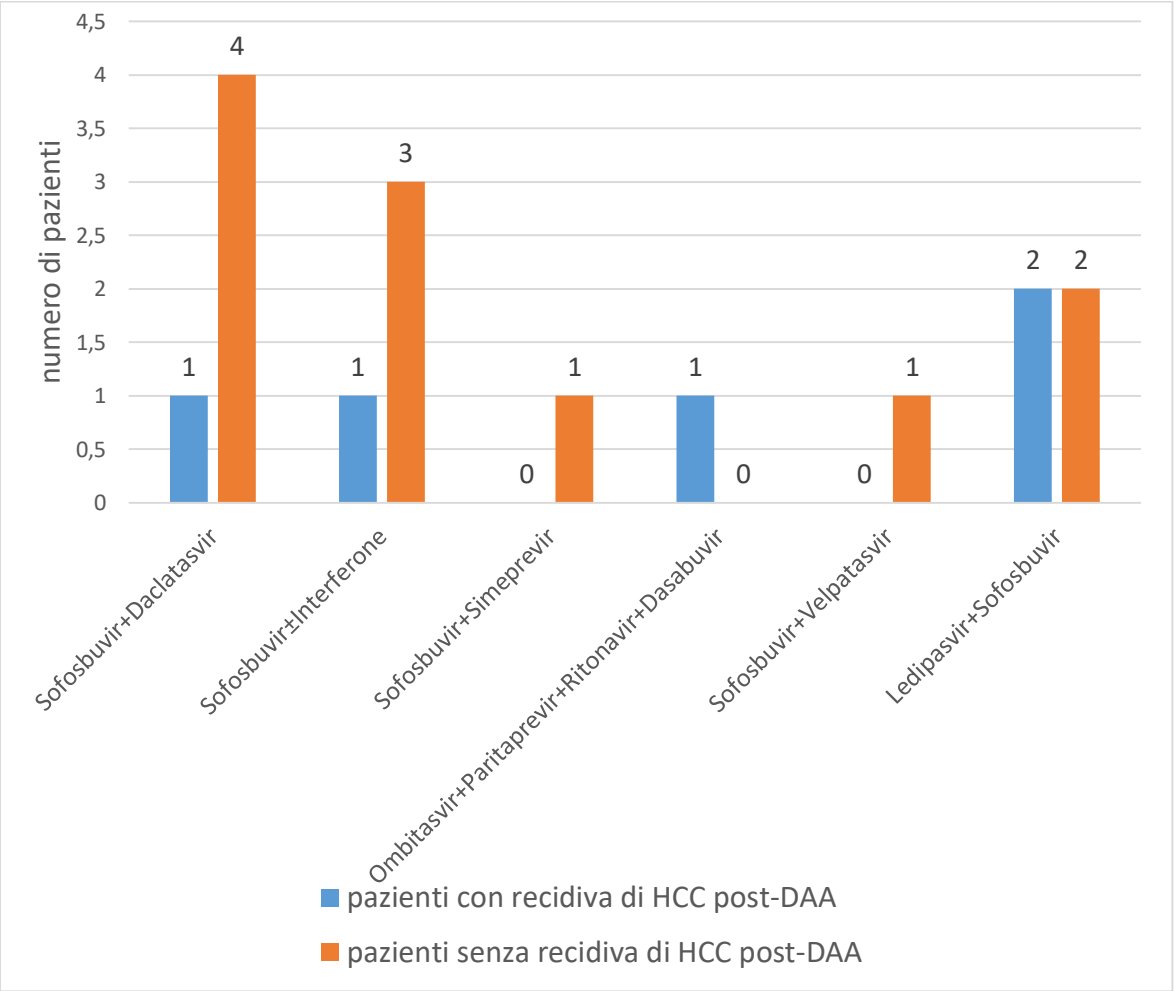

Grafico 24 – Tipologie di DAA utilizzate nei pazienti con HCC pre-DAA con e senza recidiva dopo terapia antivirale. Non c'è differenza statisticamente significativa ($p > 0.3$).

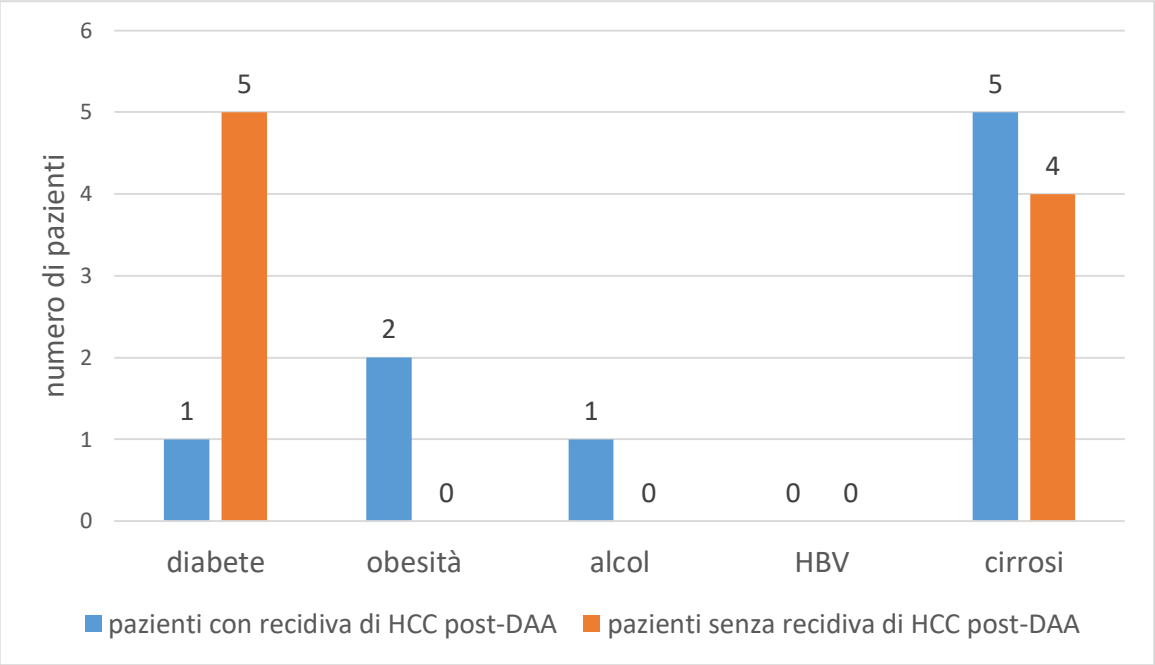

Grafico 25 – Cofattori di epatopatia in pazienti con HCC pre-DAA con e senza recidiva post terapia antivirale. L'obesità risulta maggiormente diffusa tra i pazienti con recidiva (2/5 pazienti e nessun paziente senza recidiva) ($p < 0.03$). La cirrosi è presente in tutti i pazienti con recidiva (5/5) e in 4/11 pazienti con storia di HCC ma senza recidiva ($p < 0.02$).

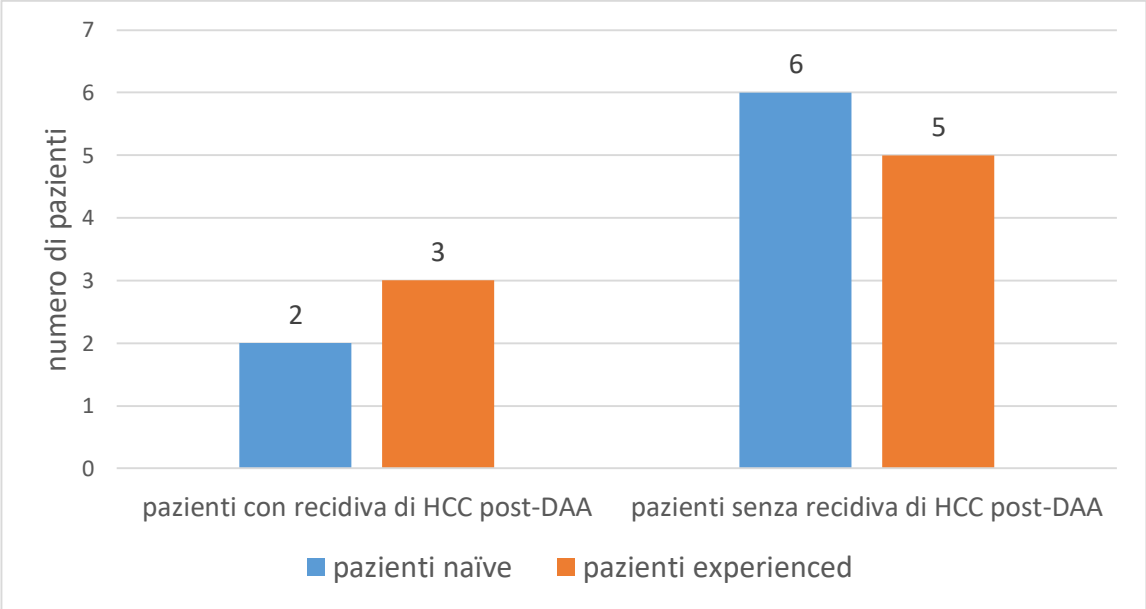

Grafico 26 – pazienti naïve o experienced con HCC pre-DAA con e senza recidiva dopo terapia antivirale. Non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi per quanto riguarda l'esser stati precedentemente sottoposti a una terapia per HCV ($p > 0.5$).

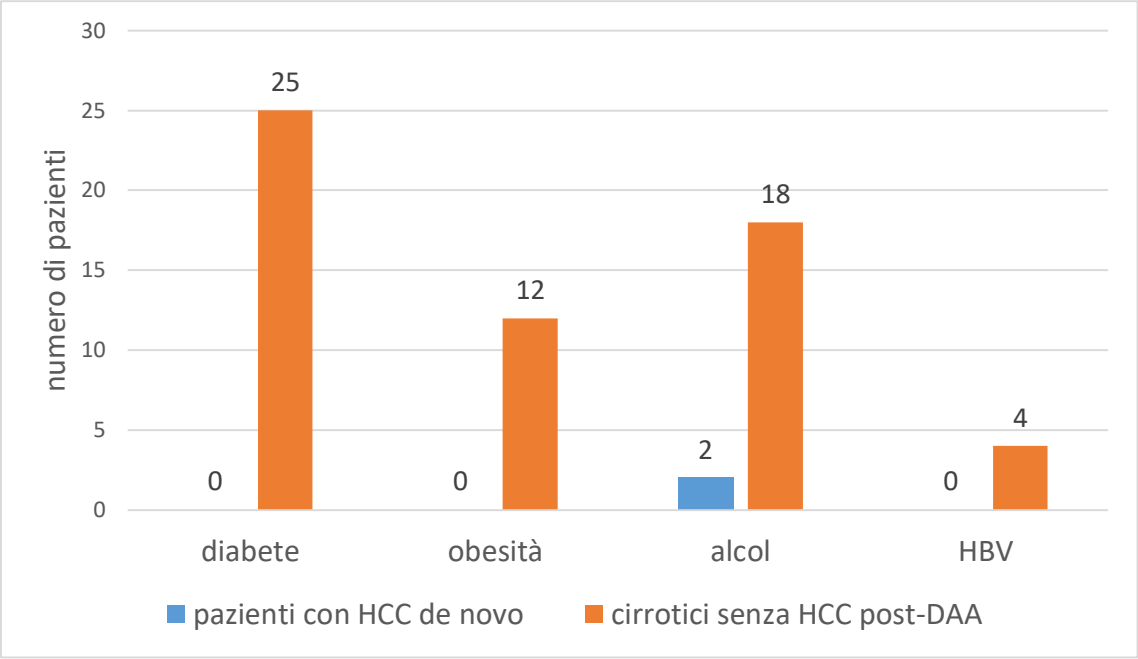

Grafico 27 – fattori di rischio di epatopatia in pazienti con HCC de novo (tutti cirrotici) e nei pazienti cirrotici che non hanno sviluppato HCC post-DAA. Non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi con p almeno > 0.1 in tutti i confronti.

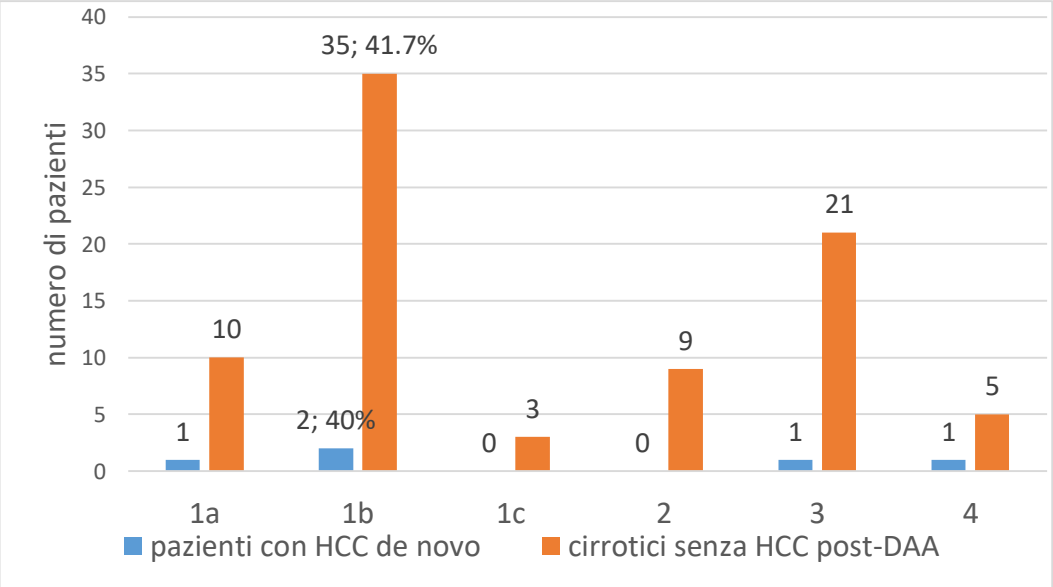

Grafico 28 – Genotipi di HCV nei pazienti con HCC de novo dopo terapia con DAA e nei pazienti cirrotici senza HCC post-DAA. Il genotipo più rappresentato tra i pazienti con HCC de novo è 1b (2/5, 40%), così come nei cirrotici senza HCC (35/84, 41.7%).

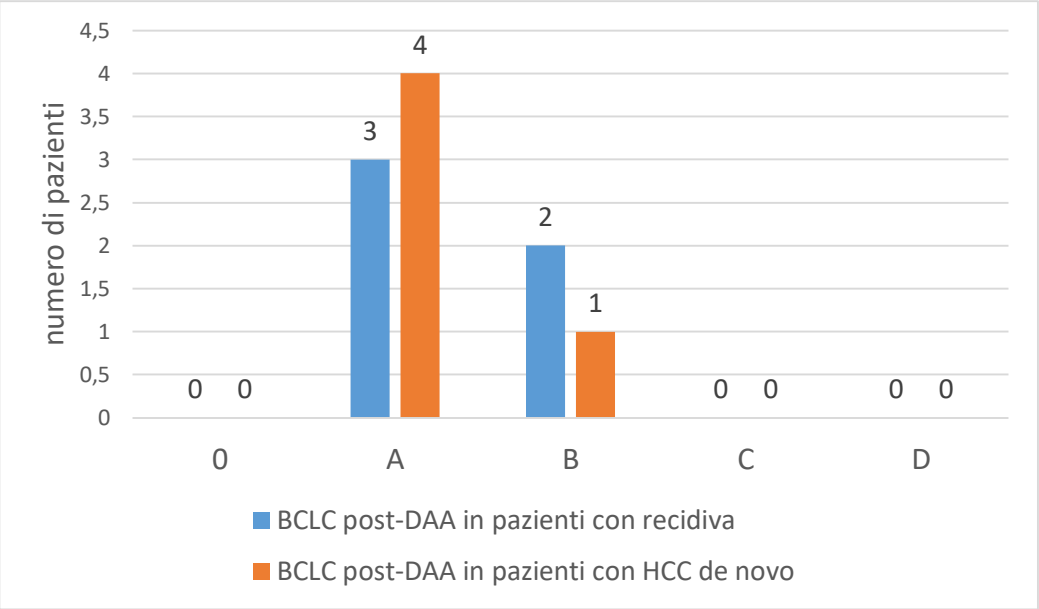

Grafico 29 – Stadio del tumore (BCLC) post-DAA nei pazienti con recidiva e con HCC de novo dopo terapia antivirale. Nel confronto statistico non sono emerse differenze significative ($p > 0.4$).

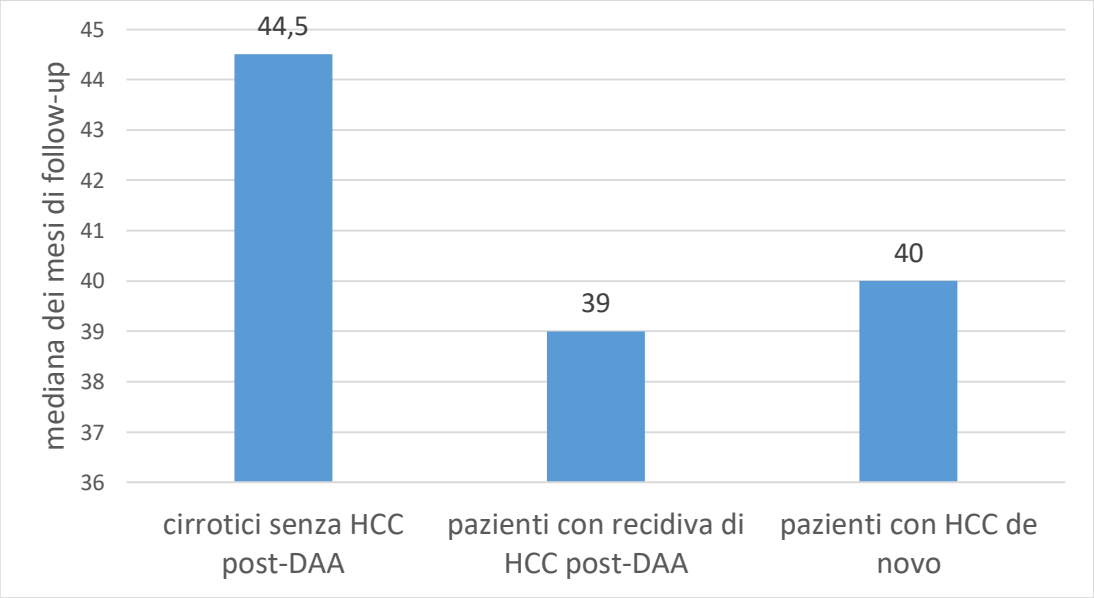

Grafico 30 – mediana dei mesi di follow-up nei pazienti cirrotici senza HCC post-DAA, nei pazienti con recidiva di HCC e nei pazienti con HCC de novo. Confrontando le mediane dei pazienti con HCC de novo e dei pazienti con cirrosi senza HCC post-DAA non emerge una differenza statisticamente significativa ($p > 0.8$), così come tra i pazienti con HCC de novo e quelli con recidiva dopo terapia antivirale ($p > 0.3$).

9. FIGURE

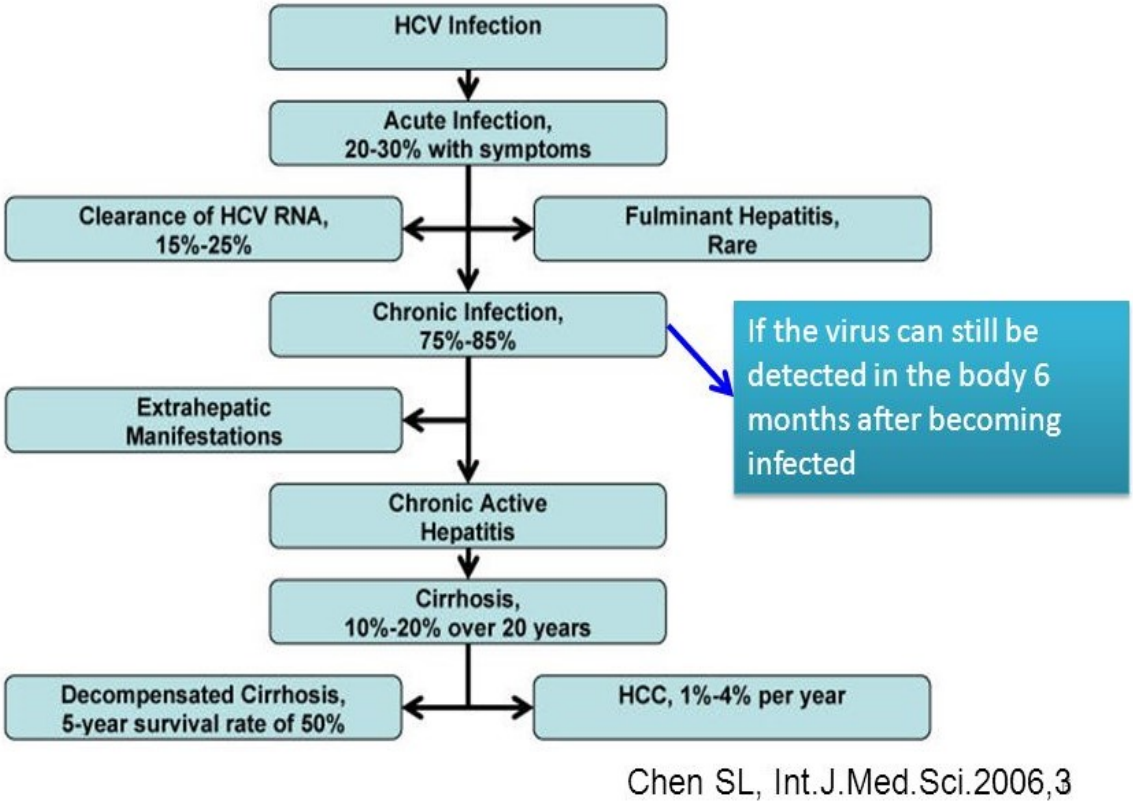

Figura 1 – Storia naturale dell'infezione da HCV

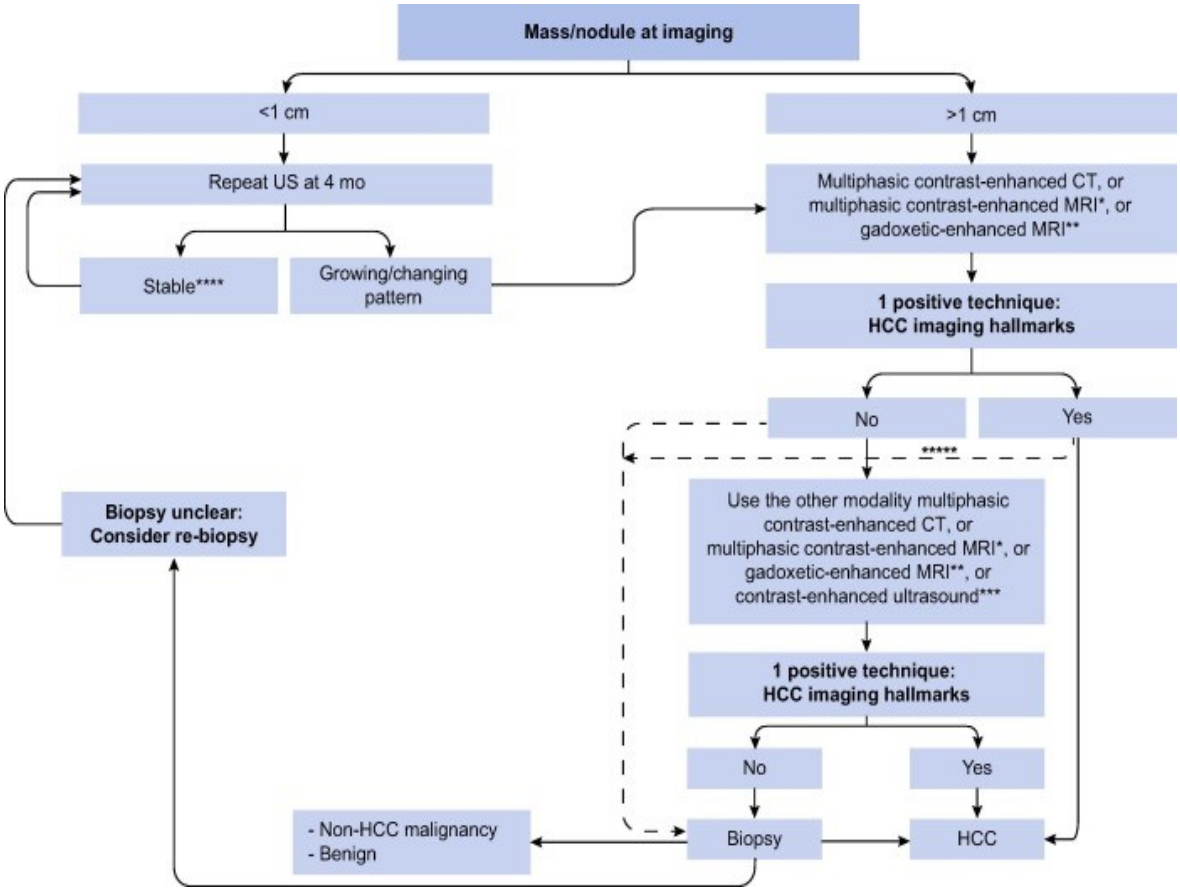

Figura 2 - Algoritmo diagnostico per l'epatocarcinoma proposto dalle le linee guida EASL - EORTC (European Association for the Study of the Liver - European Organisation for Research and Treatment of Cancer) – 2018

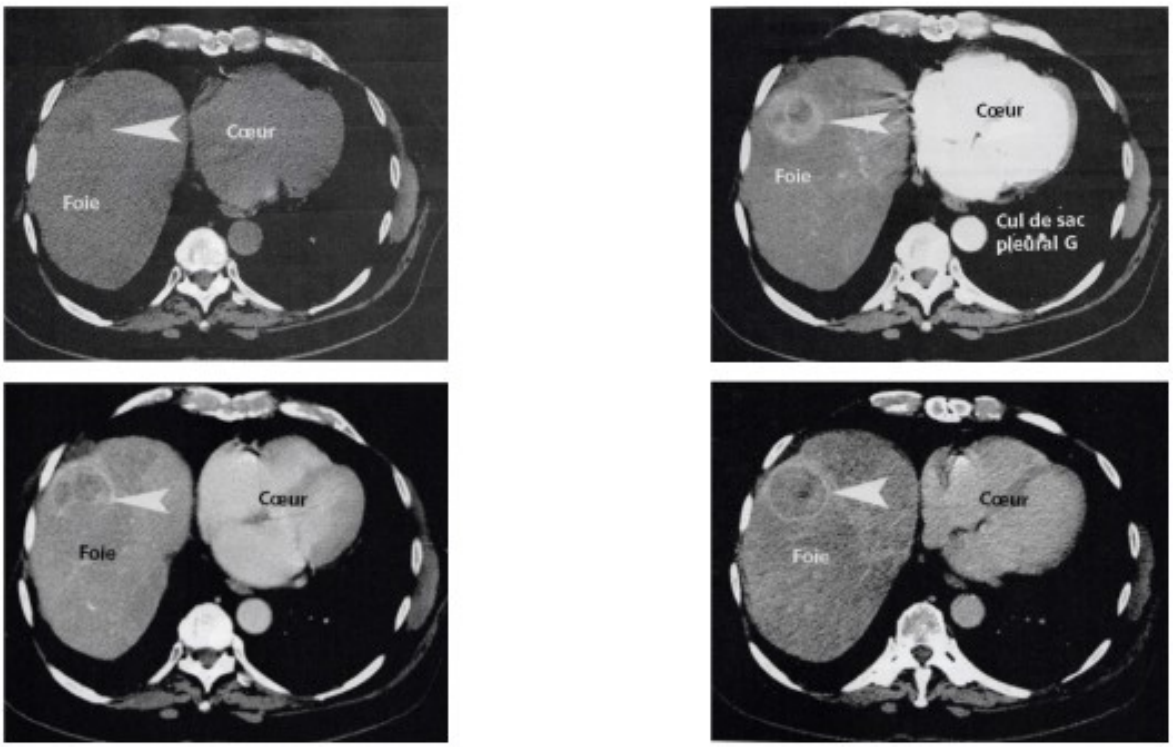

Figura 3 – Immagini TC di carcinoma epatocellulare localizzato al lobo destro. In alto a sinistra immagine TC senza iniezione di mezzo di contrasto (MDC); in alto a destra con MDC in fase arteriosa con iperhenancement; in basso a sinistra e a destra con MDC rispettivamente in fase venosa portale e tardiva si evidenzia il tipico wash-out. (Fonte: Collegio degli Universitari di Francia di gastroenterologia – "Hépato-gastro-entérologie et chirurgie digestive").

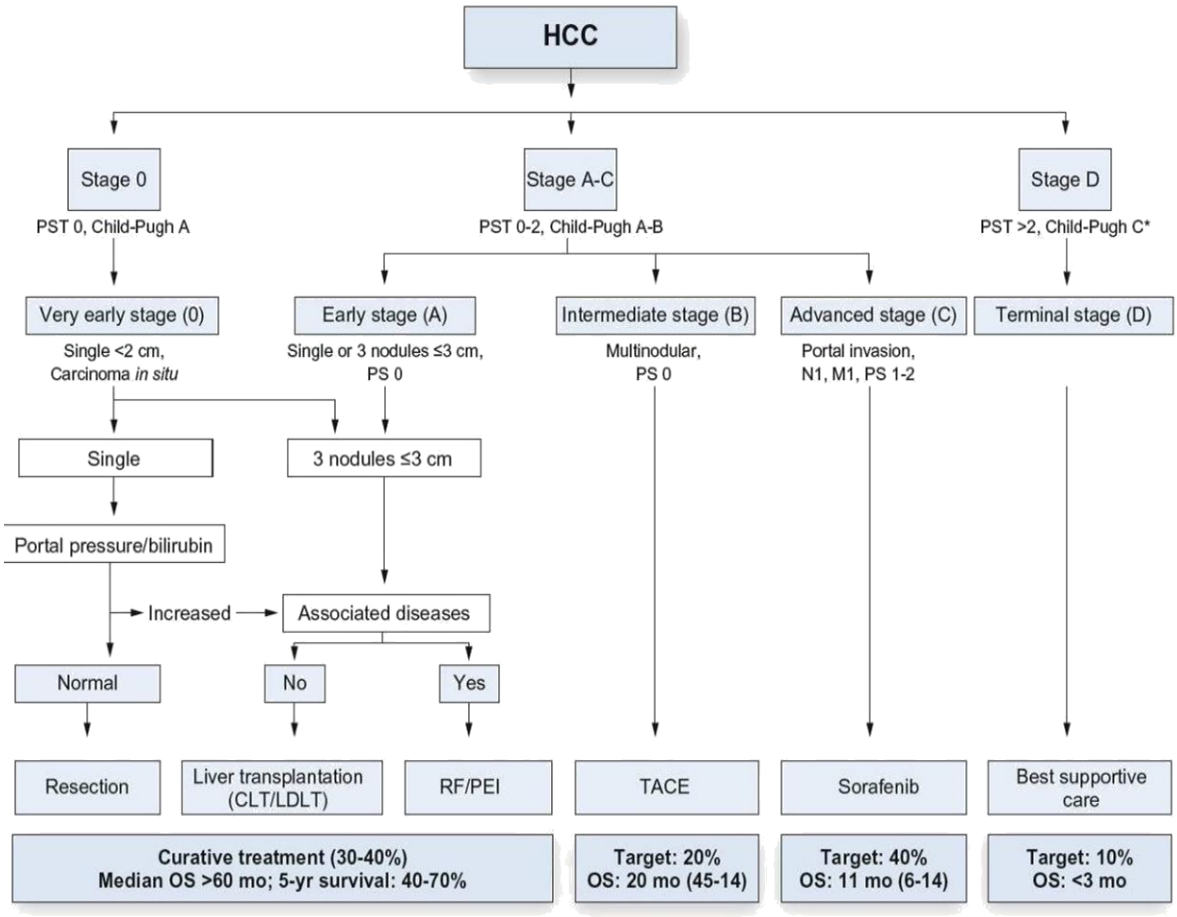

Figura 4 - Schema di stadiazione ed eventuale trattamento (con relativa Overall Survival) dell'epatocarcinoma proposto dalla Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC).